

THÈSE

présentée à la
FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ETAT)

par

Jean MEUNIER

Pharmacien Chimiste de 1^{re} classe du Service de Santé des Armées

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Ancien Interne des Hôpitaux Civils de Lyon
Licencié ès Sciences

TITRE

Etude de la formation d'espèces moléculaires transitoires de
la phénothiazine et de ses dérivés à usage thérapeutique
Applications analytiques et toxicologiques

*Soutenue publiquement le **28** Octobre 1970*

JURY : MM. MALANGEAU, *Président*
TRUHAUT, *Examineur*
BOURDON, *Examineur*
DOUZOU, *Examineur invité*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551501_0023

THÈSE

présentée à la

FACULTÉ DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE
(DIPLOME D'ÉTAT)

par

Jean MEUNIER

Pharmacien Chimiste de 1^{re} classe du Service de Santé des Armées

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Ancien Interne des Hôpitaux Civils de Lyon
Licencié ès Sciences

TITRE

Etude de la formation d'espèces moléculaires transitoires de
la phénothiazine et de ses dérivés à usage thérapeutique
Applications analytiques et toxicologiques

Soutenue publiquement le 28 Octobre 1970

JURY : MM. MALANGEAU, *Président*

TRUHAUT, *Examineur*

BOURDON, *Examineur*

DOUZOU, *Examineur invité*



PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

M.	QUEVAUVILLER A.	+	Doyen, Président du Conseil transitoire de Gestion
M.	GUIGNARD J.-L.		Assesseur
M.	RODINEAU L.	+	Secrétaire Général
Mme	FERRARI S.		Attaché Principal d'Administration Universitaire Adjointe au Secrétaire Général
M.	BRENN A.	+	Attaché Principal d'Intendance Universitaire
M.	JEANDEL L.		Attaché d'Administration Universitaire
M.	JACOB A.	+	Attaché d'Administration Universitaire
Mlle	FRIZOL E.		Attaché d'Administration Universitaire

DOYENS HONORAIRES

M. VALETTE Guillaume O +
M. MALANGEAU Pierre

PROFESSEURS HONORAIRES

M.	LAUNOY L.		O +
M.	FLEURY P.		O +
M.	PICON M.		O +

PROFESSEURS

M.	JANOT M.-M.	O +	Membre de l'Institut .. Pharmacie galénique (T)
M.	VALETTE G.	O +	Pharmacodynamie (T)
M.	PARIS R.	O +	Matière médicale (T)
M.	GUILLOT M.	O +	Physique (T)

M.	GAUTIER J.-A.	O +	Chimie organique (T)
Mlle	LAMBIN S.	+	Microbiologie (T)
M.	RAOUL Y.	+	Physiologie (T)
M.	COURTOIS J.	+	Chimie biologique (T)
M.	DOMANGE L.	O +	Chimie générale et minérale (T)
M.	TRUHAUT R.	C + Membre de l'Institut..	Toxicologie et Hygiène industrielle (T)
M.	MORETTE A.	+	Hydrologie (T)
M.	CAVIER R.	+	Parasitologie (T)
M.	QUEVAUVILLER A.	+	Hygiène et Education sanitaire (T)
M.	MOREAU R.	+	Pharmacie chimique (T)
M.	GERMAN A.		Microbiologie (T)
M.	PIETTE M.	+	Hématologie (T)
M.	MALANGEAU P.		Chimie analytique (T)
M.	GIRARD M.	+	Biochimie appliquée (T)
M.	DILLEMANN G.		Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)
M.	DEYSSON G.	+	Botanique (T)
M.	FLAHAUT J.		Minéralogie (T)
M.	RENAULT J.		Chimie organique (T)
M.	LE HIR A.		Pharmacie galénique (T)
M.	BOUDENE C.		Toxicologie et Hygiène industrielle (T)
M.	LARUELLE P.		Physique (T)
M.	ROSSIGNOL P.		Pharmacodynamie (T)
M.	MANGEOT A.		Pharmacie galénique industrielle (T)
M.	DELAVEAU P.		Séméiologie et Pathologie générale (T)
M.	COHEN Y.		Pharmacodynamie (T)
M.	RENAULT H.		Physique (T)
M.	BOURDON R.		Chimie analytique (T)
M.	REYNAUD P.		Pharmacie chimique (T)
M.	LE MOAN R.		Toxicologie

M.	POISSON J.		Pharmacie galénique
M.	MICHEL R.		Endocrinologie (T)
M.	LECLERC M.		Hématologie
M.	PERCHERON F.		Chimie biologique
M.	SAVEL J.		Biologie animale
M.	DESVIGNES A.		Cryptogamie et Technique bactériologique
M.	MIOCQUE M.		Chimie organique

MAITRES DE CONFERENCES

M.	PAOLETTI C.		Toxicologie (T)
M.	BORY J.		Microbiologie (T)
M.	GUIGNARD J.-L.		Botanique générale (T)
M.	GOUNELLE J.-C.		Physiologie (T)
M.	BINET P.		Biologie animale (T)
M.	COMBET-FARNOUX C.		Chimie organique
M.	PLAT M.		Chimie analytique (T)
Mme	PLAT M.		Législation et Déontologie pharmaceutique (T)
M.	DELACOUX E.		Pharmacie chimique (T)
M.	CAVE A.		Matière médicale (T)
M.	PUISIEUX F.		Pharmacie galénique (T)
M.	DUCHON D'ENGENIERES M.		Chimie organique (T)
M.	ADOLPHE C.		Physique (T)
M.	GUERNET M.		Chimie analytique (T)
M.	DIDRY J.		Mathématiques appliquées aux Sciences expérimentales (T)
M.	KHODADAD P.		Chimie minérale (T)
M.	PERLES R.		Chimie biologique (S)
M.	LEMONNIER A.		Biochimie appliquée (S)
M.	YONGER J.		Chimie analytique (S)
M.	HAMON M.		Chimie analytique (S)

M.	MESTRE J.		Botanique (S)
M.	AGNERAY J.		Biologie (S)
M.	DREUX C.		Biochimie appliquée (S)
M.	RIVET J.		Chimie générale et minérale (S)
M.	ETIENNE J.		Mathématiques (S)
M.	HAZEBROUCQ G.		Physique (S)
M.	ROUSSELET F.		Biochimie appliquée (S)
M.	BOURRINET P.		Hygiène (S)
M.	SOULEAU Ch.		Chimie générale et minérale (S)
Mme	HUBERT J.		Microbiologie (délég.)
Mlle	BOURNIQUE C.		Botanique (délég.)

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

M.	GESTEAU P.	+
M.	GUERIN H.	+
Mme	HARISPE M.	
Mlle	LONGUEVALLE S.	
M.	HARISPE	+

MAITRES-ASSISTANTS et CHEFS DE TRAVAUX

M.	ANDRÉ Guy		TP Pharmacie galénique 2-3e A (délég.)
M.	ADAM Yves		TP Pharmacie chimique 5e A (Synthèse médicaments (T)
M.	AYMARD Pierre		ED Physiologie-Histologie (T)
Mlle	BARNIER S.		Mathématiques (délég.)
Mlle	BENOIS Martine		TP Botanique 2e A. (délég.)
Mlle	BERNARD J.		TP Bactériologie 5e A Industrie (T)
M.	BESANCON Pierre		Mathématiques (S)

Mme	BLANC Jeanine		ED Chimie organique 1-2 A (T)
Mme	BONALY J.		ED Botanique 1A. (délég.)
Mme	BOSIO A.-Marie		TP Chimie qualitative (délég.)
M.	BOURLIOUX Pierre		CES Bactériologie (délég.)
M.	CAILLARD Claude		TP Pharmacodynamie 4-5 A (délég.)
M.	CANAL Jacques		ED et TP Biochimie appliquée 5 A - Biologie officine (délég.)
M.	CARRE Daniel		Mathématiques (Délég.)
Mlle	CARRERE Clothilde		TP Microbiologie 4 A (T)
Mme	CENAC Jacqueline		CES Parasitologie (T)
Mme	CHARDENOT P.		Chimie biologique 3-4 A (T)
Mme	CHARPENTIER M.		ED Chimie générale et minérale 1ère A (T)
M.	CHERON J.-Marie		TP Chimie biologique 3-4 A (délég.)
Mlle	CLAIR Geneviève		ED Matière médicale 3-5 A (T)
M.	DAGRON Christian		ED Chimie générale et minérale 2 A (T)
M.	DAVY Jean		CES Biochimie (délég.)
M.	DEBRAY M.		Mathématiques (délég.)
Mlle	DECAUDIN M.-Thérèse		TP Parasitologie 4 A (T)
M.	DELATTRE Jacques		CES Electrochimie et TP 5 A Biologie (délég.)
M.	DELCOURT Alain		ED Botanique 2 A (délég.)
M.	DOUSSIN Alexandre		TP Chimie analytique 5 A
Mlle	DUCHENE Dominique		CES Pharmacie galénique industrielle (délég.)
Mlle	DUMANT Geneviève		CES Analyse physico-chimique des médicaments (T)
Mme	DUPONT Charlotte		CES Pharmacodynamie (T)
M.	ETIENNE Guy		TP Pharmacie galénique 2-3 A (T)
Mme	FAURE Liliane		ED Chimie organique 1-2 A (T)
Mlle	FLEURY Solange		ED Chimie analytique quantitative (T)

Mlle	FOGLIETTI M.-José		TP Chimie biologique 3-4 A (T)
M.	GAIRARD Alexis		CES Contrôle médicaments (biologie) (délég.)
M.	GAYRAL Philippe		TP Zoologie 1 A (délég.)
Mme	BOY Françoise		Mathématiques (délég.)
M.	GIRARDEAU J.-F.		TP Chimie organique 5 A (synthèse organique) (délég.)
M.	GOBERT Jean		TP Zoologie 1 A (S)
Mlle	GOURSAT M.-José		ED Botanique 1 A (T)
M.	GROSSIORD J.-Louis		TP Physique 1 A (délég.)
Mlle	GUILLOUX Edith		TP Chimie biologique 3-4 A (S)
M.	HENRY Jacques		Essais médicaments chimiques et galéniques (T)
Mme	JULTEN Maud		ED Physique 2 A (T)
M.	JULIEN René		ED Chimie minérale 1 A (T)
Mlle	JUND Yvonne		CES Microbiologie et con- trôle médicaments - Microbiologie (T)
M.	LALEGERIE Pierre		CES Biologie (S)
M.	LAROCHE Jacques		TP 5 A - Secourisme - Hygiène - Education sanitaire (T)
Mme	LEDUC Yvette		TP Chimie analytique qualitative (T)
M.	LEGENDRE Lucien		TP Chimie organique 2 A
Mme	LEGER Nicole		Parasitologie 5 A (T)
M.	LELUC Robert		CES Bactériologie (T)
M.	LEMAY René		CES Législation (T)
Mme	LE QUANG THUAN		TP Chimie analytique qualitative (S)
M.	LEVILLAIN Pierre		ED Chimie analytique qualitative (T)
Mme	LEVY Françoise		ED Botanique 2 A (délég.)
M.	LIKFORMAN Joseph		ED Physique 1 A (T)
Mlle	LONGEVIALLE M.		ED Botanique 1 A (T)
M.	MAHUZIER Georges		TP Chimie analytique quantitative (T)

M.	MANDEREAU Jean		CES Pharmacotechnie chimique (T)
M.	MANET Léon		CES Biochimie (T)
M.	MARTIN-FRERE H.		TP Chimie générale et minérale 1ère A (T)
M.	MAUGUEN Yves		Mathématiques (délég.)
Mme	MAYRARGUE Joëlle		ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
Mlle	MICHELET Annick		ED Chimie générale et minérale 2 A (T)
M.	MOULIN Pierre		TP Physique 1 A (délég.)
Mme	MOURY Jacqueline		TP Zoologie 1 A (S)
Mme	NOTTEGHEM M.-J.		ED Parasitologie 4 A (T)
M.	NGUYEN Phu Lich		CES Toxicologie (délég.)
Mme	PANOUSE Jacqueline		CES Microbiologie - Virologie - Immunologie (T)
Mme	PAOLAGGI Françoise		CES Electrochimie et TP 5 A Biologie (T)
M.	PESTIS Jean		TP Anatomie, Physiologie humaine (T)
Mme	PIETTE Colette		CES Hématologie 5 A - Biologie (T)
M.	POULLAIN Pierre		CES Hématologie 5 A - Biologie (T)
M.	POUSSET J.-Louis		TP Chimie extractive 5 A (T)
M.	QUENEZ Pierre		TP Chimie générale et minérale 1 A (T)
Mme	RABIANI Odile		ED Chimie analytique qualitative (S)
M.	RABARON Alain		CES Pharmacotechnie galénique (délég.)
Mme	ROBERT Monique		CES Immunologie - Microbiologie (T)
M.	RODIER Noël		ED Physique 2 A (S)
Mlle	ROLLEN Alice		TP Botanique 1 A (T)
Mlle	ROUSSELET Renée		Essais médicaments végétaux (T)
Mme	RUDLER Michèle		ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
Mme	SALES Nicole		TP Physiologie, Histologie (T)

Mlle	SEBASTIEN Francine		TP Microbiologie 5 A (Biologie officine) (délég.)
M.	SCHUSTER Jean		Essais des médicaments chimiques et galéniques (T)
Mlle	SORIA Claudine		Biologie officine 5 A (S)
Mme	SEILLER Monique		TP Pharmacie galénique industrielle (T)
Mlle	STRUPLER Nicole		ED Chimie générale et minérale 1 A (T)
M.	TOUBOUL J.-Pierre		TP Chimie analytique 5 A (délég.)
M.	TRIEU Thuong Cong		TP Chimie analytique quantitative (T)
Mlle	TROUPEL Solange		TP Chimie analytique quantitative (S)
Mme	VAN AMERONGEN G.		ED Chimie analytique quantitative (délég.)
M.	VAYSSIÈRE J.-Michel		ED Chimie organique 1-2 A (délég.)
M.	VILLERS Jacques		TP Physique 2 A (T)
Mme	WELBY Josette		TP Pharmacie galénique (S)

BIBLIOTHEQUE

Mlle	RUYSEN Y.	+	Conservateur en Chef
Mme	DESGRIPPES A.		Conservateur
Mme	COULET M.A.		Conservateur
Mlle	LANGLOIS C.		Conservateur
N...			Conservateur

<i>Légion d'Honneur</i>	{	+	Chevalier
		O	Officier
		C	Commandeur

Liste mise à jour au 15 septembre 1970.

A la mémoire de mon Père et de mes Grands Parents

A ma Femme

A ma Mère

A ma Famille

A mes Amis

A Monsieur le Médecin Général de 1^{ère} Classe BAYLON

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Directeur de l'Ecole d'Application du Service de Santé des Armées et de l'Hôpital d'Instruction des Armées du Val-de-Grâce.

A Monsieur le Médecin Général CARAYON

Professeur Agrégé du Service de Santé des Armées

Sous Directeur de l'Ecole d'Application du Service de Santé des Armées.

A Monsieur le Médecin en Chef de 1^{ère} Classe DEMARTY

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Médecin Chef de l'Hôpital d'Instruction des Armées du Val-de-Grâce.

A Monsieur le Médecin en Chef de 1^{ère} Classe JUILLET

Professeur au Val-de-Grâce

Chef des Services de Neuro-Psychiatrie de l'Hôpital d'Instruction des Armées du Val-de-Grâce,

qui nous a permis d'obtenir tous les prélèvements biologiques dont nous avons besoin pour la conduite de ce travail.

A Messieurs les Professeurs et Professeurs Agrégés du Val-de-Grâce

En Hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur SCHUSTER

Président de l'Académie de Pharmacie

A Monsieur le Pharmacien Chimiste Général (C.R.) DREVON

Professeur à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de LYON

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

A Monsieur le Pharmacien Chimiste en Chef de 1^{ère} Classe CIER

Professeur à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de LYON

Maître de recherches du Service de Santé des Armées.

A Monsieur le Professeur BOUCHERLE

Professeur à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de GRENOBLE.

*A nos Maîtres de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de LYON et de l'Internat en Pharmacie des Hospices Civils
de LYON,*

En témoignage de reconnaissance.

*A tous nos collègues du Service de Santé des Armées et des
Services Pharmaceutiques et Chimiques du Val-de-Grâce.*

A Monsieur le Médecin de 1^{ère} Classe LETERRIER

Assistant de recherches (Biophysique) du Service de Santé
des Armées,

En témoignage de gratitude pour l'aide efficace
qu'il a bien voulu nous accorder en nous faisant
profiter, en particulier, de sa grande expé-
rience de la spectrométrie de résonance para-
magnétique électronique.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur MALANGEAU

Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Paris

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien Chef des Hôpitaux Psychiatriques de la Seine

Nous le remercions très vivement d'avoir bien voulu accepter de présider notre Jury de Thèse et de l'intérêt qu'il nous a manifesté. Nous le prions de bien vouloir trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A nos Juges

Monsieur le Professeur TRUHAUT

Membre de l'Institut

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien Chef des Hôpitaux Psychiatriques de la Seine

Commandeur de la Légion d'Honneur

Nous sommes, une nouvelle fois, profondément honoré de sa présence parmi nos Juges. Nous lui demandons de bien vouloir accepter l'expression de notre respect et de nos sentiments de reconnaissance pour la bienveillance qu'il nous a toujours accordée.

Monsieur le Professeur BOURDON

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien des Hopitaux de Paris

Nous le remercions de nous avoir accueilli avec une grande amabilité chaque fois que nous avons fait appel à lui, et de nous faire profiter de sa grande expérience de la toxicologie hospitalière d'urgence.

Il a bien voulu accepter de nous juger. Qu'il nous soit permis en cette occasion de lui exprimer notre vive gratitude.

Monsieur le Pharmacien Chimiste en Chef de 2^{ème} Classe DOUZOU

Professeur au Val-de-Grâce

Maître de Recherches du Service de Santé des Armées

Chevalier de la Légion d'Honneur

La première partie de cette thèse n'aurait pu être effectuée s'il ne nous avait offert d'utiliser les appareillages dont dispose son service de Biospectroscopie à l'Institut de Biologie Physico-chimique de la Fondation Edmond de Rothschild. Nous lui sommes très reconnaissant de nous avoir orienté, conseillé et aidé, notamment dans la réalisation de la partie la plus fondamentale de ce travail.

Nous le remercions respectueusement pour l'amitié qu'il nous a témoignée depuis notre arrivée au Val-de-Grâce et nous sommes heureux, aujourd'hui, qu'il puisse siéger parmi nos Juges.

To Doctor Irène FORREST, Ph D.

Chief of Biochemical Research Laboratory
Veterans Administration Hospital,
Palo Alto, California, U.S.A.

We beg her to accept our deep gratitude for her kindness. We were very honoured and we had the chance to meet her in Paris. We thank her very much for all the reprints of her several articles and personal communications.
With our respect.

Nous remercions très vivement

les laboratoires ALLARD, BAYER (République Fédérale d'Allemagne), BELLON, CETRANE, CLIN-COMAR, DAUSSE, DIAMANT GENEVRIER, GREMY-LONGUET, MEDIAL-RIKER, MIDY, PROMONTA (République Fédérale d'Allemagne), SALVOXYL, SANDOZ, SEARLE (U.S.A.), SQUIBB, SUBSTANTIA, THERAPLIX, UNILABO, de l'UNION CHIMIQUE BELGE, UPJOHN, VAILLANT DEFRESNE, WARNER-CHILCOTT (Warner Lambert Research Institute, Morris Plains, New-Jersey, U.S.A.), WYETH-BYLA,

et la Société Parisienne d'Expansion Chimique (SPECIA-Rhône Poulenc)

qui nous ont fourni gracieusement tous les échantillons de dérivés de la phénothiazine qui furent nécessaires à ce travail.

INTRODUCTION

Si la *PHENOTHIAZINE*, synthétisée à la fin du siècle dernier par BERNTHSEN (7), a manifesté des propriétés parasitocides qui ont été utilisées en art vétérinaire et en thérapeutique humaine, la fixation d'une chaîne latérale R₁ sur l'azote du cycle hétéroatomique (associée parfois à une substitution R₂ sur le carbone 3 d'un des cycles aromatiques accolés), vient de conduire en moins de vingt ans à la naissance de toute une série de molécules qui, bien que présentant une homogénéité structurale fondamentale, est composée de médicaments à actions pharmacologiques très diverses.

En effet, dans le groupe des "*PHENOTHIAZINES*" se trouvent rassemblés des antihistaminiques, des antiparkinsoniens, des antispasmodiques, des antiémétiques, des psycholeptiques (neuroleptiques vrais et tranquillisants). C'est dire l'importance qu'ils ont dans l'arsenal thérapeutique actuel et l'extraordinaire fertilité — à la fois chimique et pharmacologique — de la synthèse des dérivés de cette série.

En douze années, de 1952 à 1964, furent découverts la grande majorité des neuroleptiques appartenant à la série phénothiazinique, mais aussi aux résérpiniques, aux butyrophénones, enfin à un groupe de quelques molécules comprenant notamment des dérivés du thioxanthène. Très récemment sont apparues des molécules nouvelles ayant la structure de base de la dibenzothiazépine, douées de propriétés neuroleptiques alors que la série des diazépines n'avait fourni jusqu'alors que des antidépresseurs et des tranquillisants.

La **CHLORPROMAZINE** [chloro-3 (diméthylamino - 3' propyl) -10 phénothiazine], *Figure 2*, synthétisée en 1950 par CHARPENTIER dans les laboratoires de recherche SPECIA Rhône Poulenc, est le "prototype" des médicaments de la série phénothiazinique. Dès 1952, il fut utilisé par LABORIT et ses collaborateurs (97, 98) dans le "cocktail-lytique" destiné à la pratique de l'hibernation artificielle. Les effets de "désintéressement" observés conduisirent ces auteurs à prévoir des applications en thérapeutique psychiatrique dont les premières furent données par les psychiatres du VAL-DE-GRAVE : HAMON, PARAIRE et VELLUZ (76, 77). Peu de temps après, DELAY, DENIKER et HARL (34) posèrent les principes de la cure neuroleptique et, en fait, les principes des "chimiothérapies neuroleptiques".

Les dérivés de la phénothiazine utilisés en thérapeutique sont très nombreux. Plus de quarante bases phénothiaziniques entrent dans la composition de spécialités pharmaceutiques commercialisées en France et dans les pays Anglo-Saxons. Toutes ces molécules ont été largement étudiées dans les domaines cliniques, pharmacologiques et neurophysiologiques.

Nombre d'entre elles appartiennent à la classe générale des psychotropes et leur emploi, de plus en plus fréquent en thérapeutique (souvent ambulatoire), est à l'origine d'intoxications volontaires ou accidentelles. Ceci a conduit de nombreux chercheurs à étudier les problèmes analytiques concernant ces molécules et, en particulier, les méthodes applicables à la Toxicologie Hospitalière d'Urgence.

La complexité de leur métabolisme qui est très important et rapide a exigé la mise en oeuvre de moyens analytiques perfectionnés et les résultats obtenus sont encore très fragmentaires.

L'ampleur des travaux effectués n'est due qu'à la recherche de molécules plus efficaces ou d'activité plus spécifique, au nombre important de dérivés introduits en thérapeutique, à l'observation de complications secondaires à l'absorption prolongée de chlorpromazine par exemple, à la fréquence des intoxications qu'ils provoquent, enfin aux nombreuses voies métaboliques dans lesquelles ils se trouvent engagés et dont les étapes successives sont encore mal objectivées.

De plus, les physiciens et les biologistes moléculaires ont effectué de nombreux travaux concernant ces dérivés car le noyau phénothiazinique possède une propriété physico chimique spécifique rappelée récemment par PULLMAN (130) : UN POUVOIR DONNEUR D'ELECTRON TRES PRONONCE.

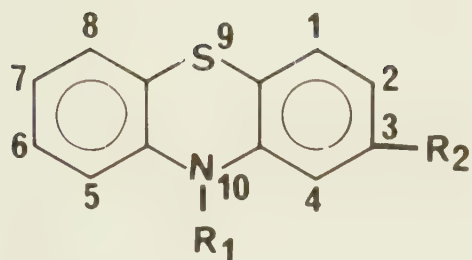


Fig1

Formule générale d'un dérivé
de la Phénothiazine.
Numérotation de Beilstein
Phénothiazine: R₁: R₂: H

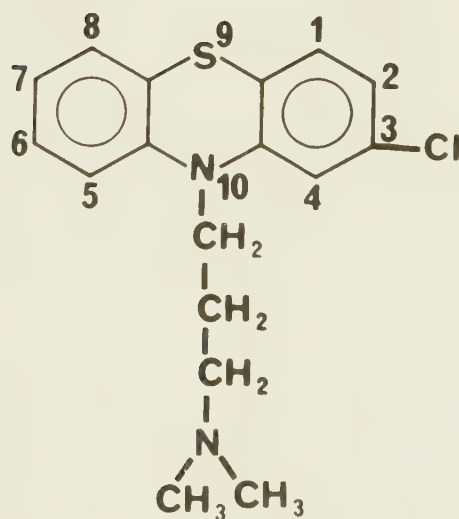


Fig2

Structure de la Chlorpromazine
chloro-3(diméthyl amino-3'propyl)-10
phénothiazine.

Dans le domaine analytique, la plupart des méthodes proposées pour la caractérisation ou le dosage des dérivés de la phénothiazine — et qui sont basées sur l'apparition d'une coloration avec divers réactifs — présentent un dénominateur commun : l'action d'une molécule oxydante. Comme la phénothiazine base, ses dérivés possèdent, en effet, des propriétés oxydo-réductrices qui se manifestent différemment selon l'agent oxydant, la nature et le pH du milieu réactionnel.

C'est SZENT-GYORGYI qui avec KARREMAN et ISENBERG (89, 146) a relié l'action pharmacologique de ces substances à leur pouvoir donneur d'électrons et c'est ainsi que ces auteurs ont émis l'hypothèse que les propriétés exceptionnelles de la chlorpromazine seraient liées à ce caractère donneur d'électrons qu'on retrouve aussi dans la réserpine.

A. et B. PULLMAN (132) ont largement contribué à découvrir par le calcul le potentiel d'ionisation très bas de ces dérivés (de l'ordre de 4 à 5 électron-volts) ce qui traduit la faible énergie nécessaire pour arracher un électron de la plus haute orbitale occupée. La détermination (par approximation) de l'énergie de la plus haute orbitale occupée de la phénothiazine base et de quelques uns de ses dérivés montre non seulement que cette énergie est faible mais aussi que cette orbitale contient des électrons dont l'énergie caractérise habituellement l'état excité d'une molécule (orbitale "antiliante").

Ce pouvoir donneur d'électrons permet d'envisager des interactions avec des partenaires de forte affinité électronique et donc accepteurs d'électrons (64, 91, 153). C'est ainsi que les dérivés de la phénothiazine comme la phénothiazine base peuvent être privés d'un électron et devenir des radicaux libres (radicaux cations) ou conduire à des associations moléculaires transitoires du type [Donneur⁺ — Accepteur⁻] appelées "Complexes par transfert de charge".

- a) D'une manière générale, les complexes par transfert de charge se forment dans des conditions très particulières (solutions aqueuses congelées, imprégnation de cellulose, solvants spéciaux) et, en fait, dans un milieu réactionnel où l'eau ne joue plus son rôle dispersif sur les solutés qui se trouvent alors désolvatés. Il est souvent délicat d'interpréter les données de spectroscopie optique traduisant l'existence de tels complexes. Enfin, sans nier le "concept" de transfert de charge, théoriciens et expérimentateurs ont reconnu quasi unanimement lors du Colloque

International de 1967 sur les "Associations Moléculaires en Biologie" qu'il doit être manipulé avec précaution et qu'il représente essentiellement une contribution à la formation d'associations moléculaires plutôt qu'une espèce chimique définie et douée d'un rôle réactionnel (131).

- b) Par contre, les espèces radicalaires nous intéressent davantage car la majorité des réactions colorées décrites pour ces dérivés permettent de conclure à l'aide de la spectroscopie hertzienne que l'apparition des colorations est contemporaine de la formation des radicaux cations. Ces formes radicalaires colorées qui, dans le cas des molécules phénothiaziniques, possèdent une durée de vie suffisamment longue (et même inhabituelle pour des espèces moléculaires radicalaires), permettent des applications analytiques.

En apportant une contribution à la mise en évidence de complexes par transfert de charge et à la formation de radicaux cations, ce travail est consacré à une meilleure utilisation analytique des formes radicalaires colorées engendrées par voie chimique à partir des dérivés de la phénothiazine.

· CHAPITRE I ·

FORMATION DE COMPLEXES
PAR TRANSFERT DE CHARGE ET DE RADICAUX CATIONS

L'interaction des molécules médicamenteuses avec la matière vivante peut, dans un certain nombre de cas, être ramenée à des interactions électroniques.

On sait en particulier que dans les molécules conjuguées nombre de propriétés physico-chimiques ou chimiques sont liées à la présence d'électrons π distribués dans l'ensemble de la périphérie moléculaire. Or, il se trouve que de nombreux composés très actifs dans les domaines biochimiques ou pharmacologiques sont constitués de systèmes conjugués riches en électrons π .

Les énergies des orbitales moléculaires sont intéressantes à connaître car elles représentent les niveaux d'énergie permis pour les électrons du système. Ces énergies s'expriment dans l'approximation dite L.C.A.O. [(linear combination of atomic orbitals) les orbitales moléculaires étant considérées comme bâties à partir des orbitales atomiques] sous la forme :

$$E = \text{constante} + \beta K$$

Deux orbitales sont intéressantes à considérer :

- la plus haute orbitale occupée (p.h.o.o.) ou "highest occupied molecular orbital" (H.O.M.O.);
- la plus basse orbitale libre (p.b.o.l.) ou "lowest empty molecular orbital" (L.E.M.O.).

La détermination des valeurs absolues de la constante et du facteur β de la formule précédente étant très difficile, on se borne en général à comparer les valeurs relatives des énergies des orbitales d'après les valeurs du coefficient K. L'énergie nécessaire pour arracher un électron à une molécule — qui est approximativement égale et de signe contraire à l'énergie de l'orbitale moléculaire qu'occupe cet électron — est appelée potentiel d'ionisation de la molécule. La connaissance du potentiel d'ionisation permet d'accéder à la détermination du pouvoir donneur d'électron de la molécule qui est d'autant plus grand que le coefficient K qui est associé à sa plus haute orbitale occupée est plus proche de zéro (orbitale plus ou moins liante).

Le pouvoir accepteur d'électron d'une molécule — donc son affinité électronique — est d'autant plus grand que l'orbitale libre est plus basse et que son coefficient K est plus proche de zéro.

Lorsqu'on met en présence une molécule ayant un bon pouvoir donneur d'électron et un partenaire de forte affinité électronique, il peut se produire :

- soit la formation d'un complexe par transfert de charge;
- soit l'oxydation du donneur par l'accepteur. Cette réaction procède par étapes monoélectroniques conduisant à la formation d'espèces intermédiaires radicalaires.

En ce qui concerne la phénothiazine base et la chlorpromazine les premières valeurs des coefficients K, calculés par divers auteurs (88, 89), montrent que ces molécules sont de remarquables donneurs d'électron ce qui confirme leur caractère très oxydable mis en évidence depuis fort longtemps.

	K (p.h.o.o.)	K (p.b.o.l.)
<i>Phénothiazine base ..</i>	0,210	1.000
<i>Chlorpromazine</i>	0,217	1.000

Aussi peut-on espérer (par un choix judicieux d'accepteurs d'électron) former des complexes par transfert de charge avec la phénothiazine base ou ses dérivés (*PHENOTHIAZINE* — *ACCEPTEUR*) ou engendrer par voie chimique des espèces radicalaires (*PHENOTHIAZINE* $\cdot$). Si le partenaire de forte affinité électronique est susceptible (selon les conditions) de former un complexe par transfert de charge et de créer un radical libre caractérisé par ses propriétés paramagnétiques, on peut être amené à penser qu'il peut agir en deçà ou au delà du point origine du processus d'oxydo-réduction définitif généralement observé.

11 - FORMATION DE COMPLEXES PAR TRANSFERT DE CHARGE.

A coté des liaisons chimiques fortes et fixes du type covalence, on a pu mettre en évidence des forces intermoléculaires plus lâches qui participent à la formation d'associations moléculaires. Ces forces d'associations comportent plusieurs composantes :

- les liaisons hydrogène;
- les forces de Van der Waals-London qui représentent la majeure partie des forces d'interactions;
- les forces de transfert de charge.

Si MULLIKEN (111, 112) a développé la théorie quantique de complexes de transfert de charge, c'est SZENT-GYORGYI (146) qui a décrit l'obtention d'un certain nombre d'associations moléculaires relevant de ce concept et envisagé leur rôle possible en biologie. En effet, l'intérêt de ces complexes ($D^+ \text{ --- } A^-$), qui se forment entre un donneur D et un accepteur d'électron A, réside dans le fait qu'ils peuvent être considérés comme étant l'étape initiale et préparatoire à un processus d'oxydo-réduction à un électron dans une chaîne de transporteurs. D'ailleurs, A. et B. PULLMAN (133) ont insisté sur le fait qu'en donnant un électron, une molécule peut devenir un très bon accepteur et qu'à l'inverse, une molécule qui accepte un électron peut devenir un très bon donneur. SZENT-GYORGYI a montré récemment (147) que lorsqu'un complexe par transfert de charge fait partie d'une chaîne de réaction, le donneur peut être "régénéré" en acceptant un électron qu'il lui cède un autre donneur utilisé comme solvant.

En principe, la formation d'un complexe par transfert de charge est traduite par la présence d'une absorption nouvelle. L'apparition d'une telle bande d'absorption dans le spectre visible est malheureusement un résultat exceptionnel qui se prête parfaitement à l'analyse spectroscopique.

De plus, il faut souvent trouver des couples "donneur-accepteur" qui répondent à plusieurs critères :

- molécules à liaisons conjuguées;
- complémentarité des surfaces des molécules.

Enfin, il est nécessaire d'utiliser des artifices permettant de placer les molécules D et A en possibilité d'interaction donc d'induire les positions mutuelles et favorables des deux partenaires et, en premier lieu, de priver d'eau la solution puisqu'elle joue un rôle dispersif sur les solutés en les solvatant. C'est ainsi que SZENT-GYORGYI (146) a utilisé deux artifices :

le premier consiste à déposer successivement sur une couche de cellulose le donneur et l'accepteur dissous dans des solvants non aqueux;

le second utilise la congélation des solutions aqueuses qui conduit à la déshydratation des solutés. Cette méthode a été reprise récemment par STOM (144) pour former des complexes par transfert de charge entre les dérivés de l'indole et des quinones.

Cependant, la plupart des complexes par transfert de charge ont été observés dans des solvants organiques tels que l'hexane, le dioxanne, le benzène, le tétrachlorure de carbone, le chlorure de méthylène, l'acétonitrile, ce dernier solvant ayant été utilisé notamment par FOSTER et HANSON (64).

Les solutions cristallisées se prêtent mal à des mesures de spectroscopie optique, en particulier par l'apparition de phénomènes de diffusion de la lumière; de plus, les enregistrements spectroscopiques attribués à des solutés dépouillés de leur gaine de solvation doivent être interprétés avec prudence. Or il est possible de conserver à basse température une solution non cristalline, limpide, en utilisant comme solvant des mélanges eau-alcool préconisés par BIELSKI et FREED (10) pour l'étude de réactions enzymatiques à une température inférieure à 0° C. En effet, la réduction progressive de la température de tels solvants permet de conserver un milieu limpide dans des intervalles de température variables selon la composition du mélange hydro-alcoolique.

- méthanol-eau (70/30) point de congélation très voisin de -100°C. ;
- méthanol-éthanol-eau (55/25/20) point de congélation très voisin de -140°C.

Ces variations de température ont deux conséquences immédiates :

- elles conduisent à une élévation de la viscosité de la solution de manière progressive;
- elles provoquent des variations de constantes diélectriques selon la relation d'AKERLOF : $\log \epsilon = a - bT$. Avant que la solution ne congèle, les valeurs de ϵ décrivent un intervalle allant de 20 à 130 environ, c'est-à-dire que la constante diélectrique dépasse aux très basses températures la valeur de celle de l'eau à $+20^{\circ}\text{C.}$

Ces variations sensibles et réversibles des valeurs des constantes diélectriques ont été mesurées par DEBEY, TRAVERS et coll. (33) pour divers solvants hydro-alcooliques et sont représentées sur la *Figure 3* et *Tableau I*. Elles ont déjà été utilisées par HUI-BON-HOA et ses coll. (84) pour provoquer l'association de solutés aromatiques.

Il nous a paru intéressant de tenter de former des complexes par transfert de charge en utilisant la phénothiazine base et ses dérivés comme donneurs d'électron et en choisissant des accepteurs de nature quinonique connus pour leur affinité électronique très prononcée.

L'apparition d'une nouvelle bande d'absorption dans les conditions précédentes d'expérimentation, pourrait alors traduire la naissance d'une telle association moléculaire d'autant que l'abaissement de température diminue fortement le mouvement Brownien préjudiciable à la réalisation des interactions moléculaires et au maintien des associations qui y trouvent leur origine.

111 - La capacité de la phénothiazine base et de ses dérivés à former des complexes par transfert de charge a déjà été démontrée par divers auteurs utilisant des méthodes différentes.

- KISTNER (91), YAGI et ses coll. (153) ont utilisé comme accepteurs d'électrons des coenzymes F M N et F A D sous leur forme

*Variations de la constante
diélectrique.*

*Variations de la masse
volumique.*

t° C.	Eau	Méthanol : 55 Ethanol : 25 Eau : 20	Méthanol : 50 Eau : 50	Méthanol : 55 Ethanol : 25 Eau : 20
+ 20	80,4	43	0,926	0,857
+ 10	84,2	45,7	0,932	0,865
0	88,1	48,6	0,938	0,873
- 10	/	51,2	0,944	0,881
- 20	/	54,6	0,949	0,889
- 30	/	57,9	0,954	0,897
- 40	/	61,4	/	0,905
- 50	/	65,3	/	0,913
- 60	/	69	/	0,921
- 70	/	73,5	/	0,930
- 80	/	78,3	/	0,938
- 90	/	83,7	/	0,946
- 100	/	89,7	/	0,954
- 110	/	95,3	/	0,962
- 120	/	101	/	0,970
- 130	/	107	/	0,978

TABLEAU I
selon DEBEY et coll. (33)

VARIATIONS DE LA CONSTANCE DIELECTRIQUE ET DE LA MASSE
VOLUMIQUE DE SOLVANTS EN FONCTION DE L'ABAISSEMENT DE LA TEMPERATURE.

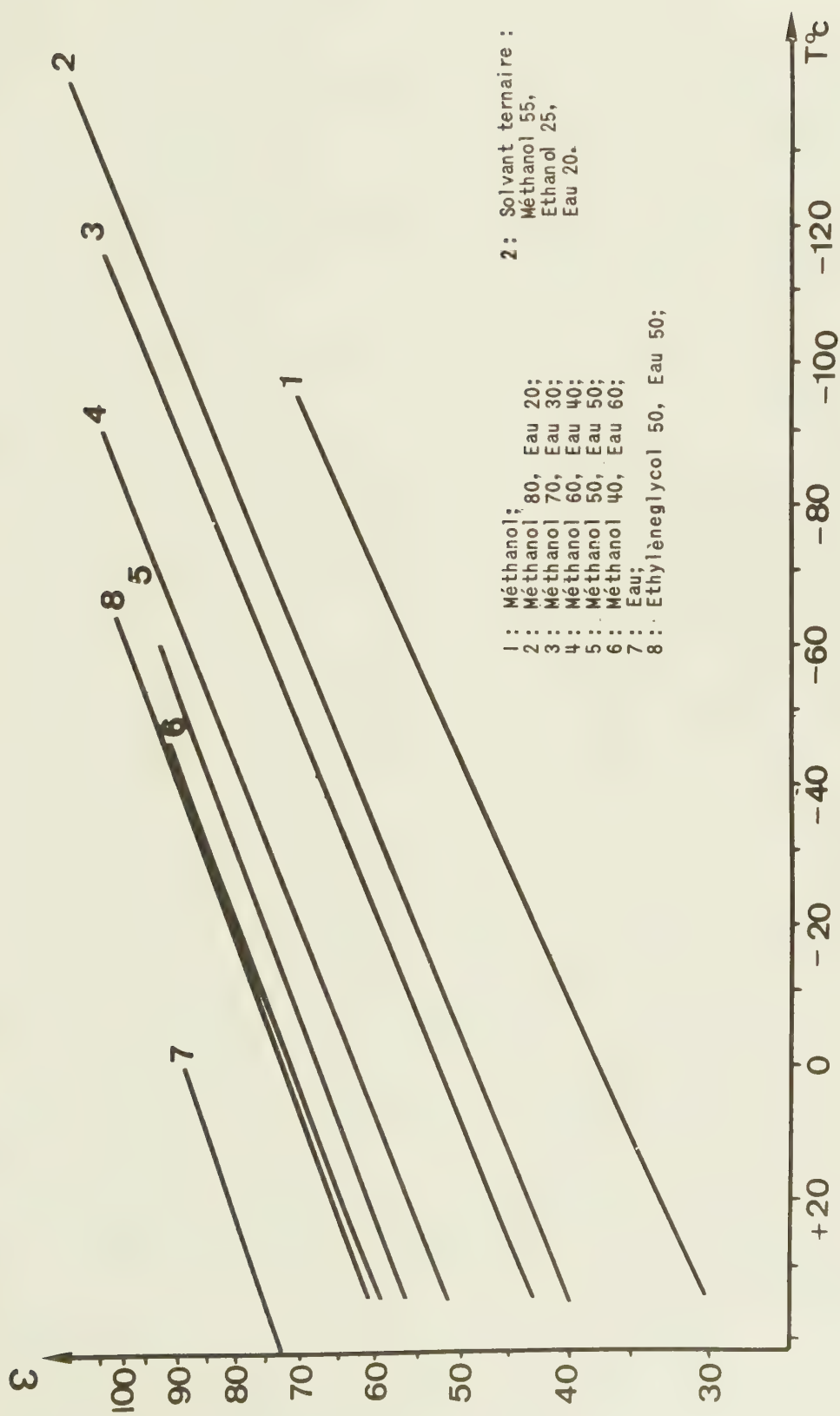


FIGURE 3 - VARIATIONS DE LA CONSTANCE DIELECTRIQUE DE DIVERS SOLVANTS
 EN FONCTION DE L'ABAISSSEMENT DE LA TEMPERATURE.
 Selon DEBEY, TRAVERS, BANERJEE et DOUZOU. (33)

oxydée, et les mesures spectroscopiques ont été effectuées sur des solutions aqueuses tamponnées (pH = 6,5). La diminution d'absorption optique et de fluorescence du F A D en présence de chlorpromazine a été attribuée à la formation d'un complexe par transfert de charge, d'autant que la longueur d'onde du maximum d'absorption du F A D était très légèrement déplacée vers les plus fortes longueurs d'onde après addition de chlorpromazine (moins de 10 nm).

- GUTMAN et KEYSER (74) ont mis en évidence la formation de tels complexes en mettant en présence dans l'acétonitrile, la phénothiazine base et la chlorpromazine d'une part, l'iode ou le brome d'autre part. La réalisation de ces complexes a été rapportée à des variations de conductivité des solutions précédentes et par l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption dans le spectre infra-rouge des complexes obtenus à l'état solide. On sait en effet, que les spectres infra-rouges des complexes par transfert de charge ne résultent pas uniquement de la simple superposition des spectres respectifs des deux partenaires mais font apparaître des variations de diverses natures, en particulier par une délocalisation des électrons du noyau phénothiazinique entrant dans le complexe, qui atteint la symétrie moléculaire et conduit à une bande d'absorption nouvelle.

- FOSTER et HANSON (64) ont également établi la formation de complexes par transfert de charge entre la phénothiazine base, la chlorpromazine et d'autres dérivés de la phénothiazine jouant le rôle de donneur d'électron, et divers accepteurs parmi lesquels des dérivés quinoniques, des dérivés nitrés du benzène et le tétracyanoéthylène. Les mesures spectroscopiques ont été effectuées sur des solutions dans l'acétonitrile. Les enregistrements ne montrent pas de variations très nettes en particulier dans l'ultra-violet où l'apparition d'une nouvelle bande serait masquée par l'absorption des dérivés mis en solution.

- En 1969, MERCIER (106) a enregistré des spectres d'absorption de complexes par transfert de charge (de composition stoechiométrique 1 : 1), formés dans le dichlorométhane entre la

phénothiazine et cinq accepteurs d'électrons (tétracyanoéthylène, trinitro - 1, 3, 5 benzène, chloranile, trinitro - 2, 4, 7 fluorénone- 9, iode). Ces enregistrements montrent l'apparition de bandes d'absorption nouvelles (deux bandes dans le cas des complexes formés avec des accepteurs d'électrons organiques) larges et asymétriques. Les concentrations des solutions en donneur et accepteurs organiques étaient les suivantes :

phénothiazine base : $5 \cdot 10^{-2}$ M
accepteurs organiques .. : $8 \cdot 10^{-3}$ M

Avec quelques dérivés N-aminoalkyl de la phénothiazine, MERCIER a montré l'instabilité des complexes formés avec le tétracyanoéthylène et le chloranile, tandis qu'il objectivait des associations plus stables entre la promazine et le trinitrobenzène. Néanmoins, dans ce cas, l'absorption du complexe est très diffuse et rend peu distinctes les bandes nouvelles alors que les concentrations en donneur et en accepteur sont très élevées : $2 \cdot 10^{-2}$ M pour la promazine et $2 \cdot 10^{-1}$ M pour le trinitrobenzène.

Enfin, plus récemment, KNOESEL et ses coll. (68, 94) ont mis en évidence — en particulier par la spectroscopie d'absorption — la formation de tels complexes entre la phénothiazine et la polyvinyl-2 phénothiazine utilisées comme donneurs et divers accepteurs ayant une grande affinité électronique : o- chloranile, p-fluoranile, tétracyanoéthylène, tétracyano 7, 7, 8, 8, quinodiméthane, 2,3 dichloro 5,6 dicyano parabenzoquinone, 2,6 dichloro parabenzoquinone.

Le mélange des solutions respectives de donneur et d'accepteur dans le dioxanne conduit à l'apparition d'une bande d'absorption nouvelle dans le spectre visible, tandis que les spectres d'absorption dans l'infra-rouge ont été enregistrés sur des pastilles obtenues par dispersion dans du bromure de potassium des complexes recueillis à l'état solide. Ces spectres montrent l'apparition d'absorptions nouvelles.

Enfin, signalons que ces complexes ont été mis en évidence pour des concentrations de donneur et d'accepteur de l'ordre de $5 \cdot 10^{-3}$ à $5 \cdot 10^{-2}$ M environ.

112 - Protocole expérimental.

a) Appareillage utilisé.

L'essentiel de l'appareillage a été décrit par DOUZOU (39). Les mesures d'absorption optique sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre CARY 15 (échelle des λ de 200 à 800 nm, mesure des densités optiques de 0 à 3,4). Les solutions sont placées dans des cellules de mesure en quartz. Un thermocouple permet la mesure de la température de la solution dans la cellule elle-même. L'abaissement de température est réalisé par un courant d'azote froid de débit et de température variables, dirigé par un système de programmation.

b) Réactifs utilisés.

Ethanol Merk	Phénothiazine R.P.
- Méthanol Merk	- Chloro-3 phénothiazine R.P.
Eau bidistillée	- Chlorpromazine base R.P.
- Parabenzoquinone Merk	- Chlorpromazine H Cl R.P.
Toluquinone Merk	- Méthoxy-3 phénothiazine R.P.
Lévomépromazine R.P.	- Lévomépromazine H Cl R.P.
Solvant "ternaire" :	Méthanol 55 volumes
	Ethanol 25 volumes
	Eau bidistillée 20 volumes

c) Mode opératoire.

Les solutions de dérivés quinoniques et de phénothiazines sont préparées extemporanément et à l'obscurité avant chaque manipulation. Le mélange des deux solutions est effectué dans des proportions définies pour chaque mesure. La cellule de mesure est remplie avec le mélange, puis est placée dans le cryostat. Deux thermocouples, l'un permettant une mesure précise de la température, à l'intérieur de la cellule à l'aide d'un Millivoltmètre A.O.I.P. G 221 par rapport à la température de la glace fondante placée dans un vase Dewar; l'autre relié à l'appareil de

programmation des variations de température, sont mis en place. Le courant d'azote froid est envoyé dans le cryostat pour obtenir dans une première étape une diminution de température de 3° C. par minute jusqu'à -100° C. 5 à 6 paliers de température sont ensuite obtenus par le système de programmation : dès que la température est stabilisée pendant une à deux minutes, l'enregistrement du spectre d'absorption entre 400 et 800 nm est effectué. L'abaissement de température est limité vers -135° C. afin d'éviter toute congélation à l'intérieur de la cellule de mesure. Enfin, un léger courant d'azote à température ordinaire est envoyé à l'extérieur du cryostat dans la chambre de mesure pour empêcher une condensation de vapeur d'eau sur les fenêtres extérieures du cryostat.

La remontée de température s'effectue en réchauffant le courant d'azote froid par une résistance électrique, cette remontée pouvant s'effectuer par étapes permettant des enregistrements spectroscopiques à divers paliers.

113 - Résultats obtenus.

a) Evolution en fonction de la température de l'absorption optique d'une solution de phénothiazine base et de benzoparaquinone dans le solvant ternaire.

La solution soumise à l'analyse est composée d'un volume d'une solution 0,01 M de phénothiazine base et d'un volume d'une solution 0,01 M de benzoparaquinone. Les enregistrements des spectres ont été effectués à des paliers de température correspondant aux valeurs suivantes :

+20° C., -74° C., -89° C., -102° C., -113° C., -128° C.

Ils sont représentés sur la *Figure 4*.

D'autre part, les enregistrements, en fonction de la température, des spectres d'absorption respectifs d'une solution de phénothiazine base ($5 \cdot 10^{-3}$ M) et d'une solution de benzoparaquinone ($5 \cdot 10^{-3}$ M) dans le solvant ternaire, ne montrent pas de variations du spectre (entre 400 et 800 nm) en dehors d'une légère augmentation continue de la densité optique due à la contraction volumique sous l'influence de l'abaissement de température.

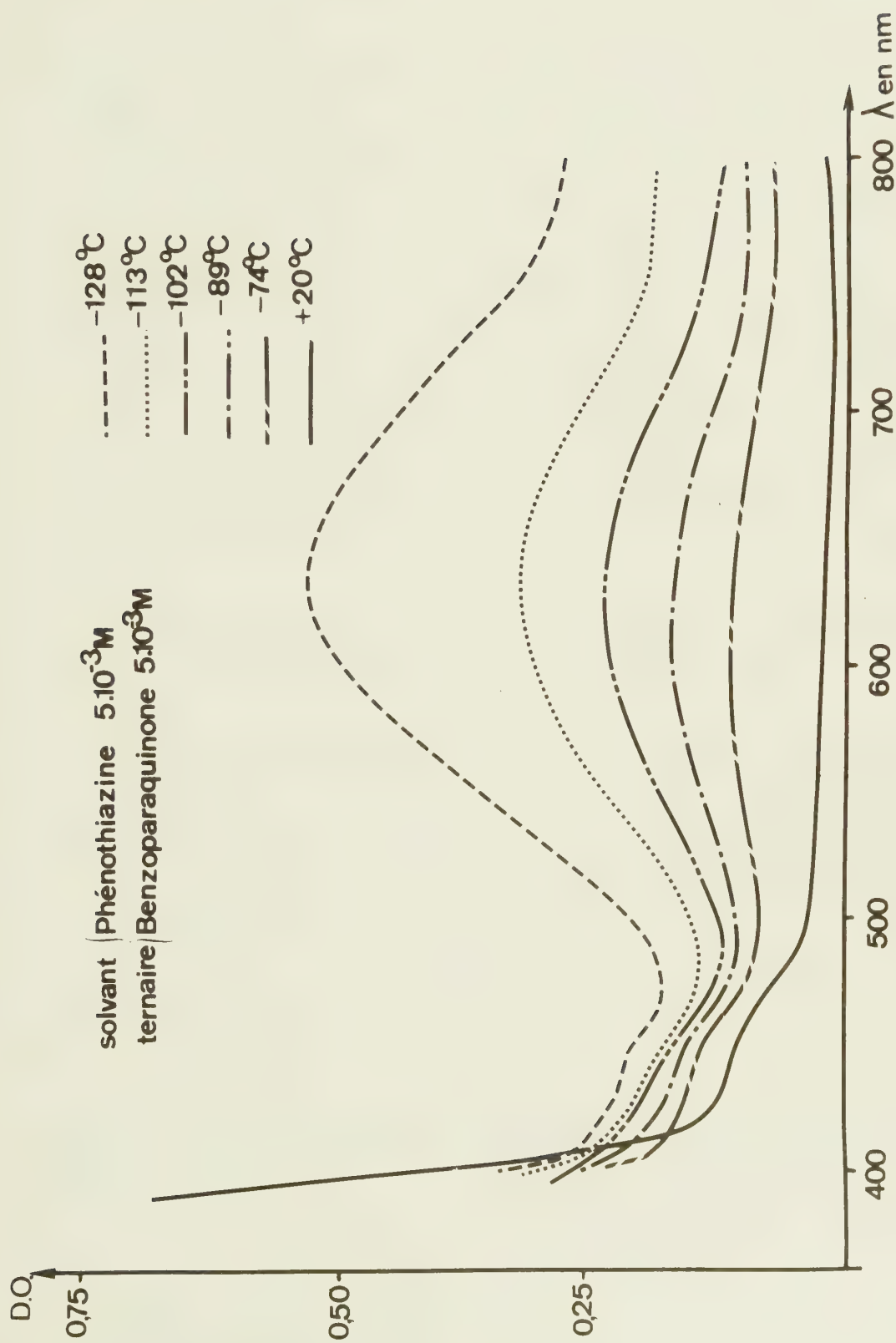


FIGURE 4 - SPECTRE D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE PHÉNOTHAZINE ET DE BENZOPARAQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSEMENT DE LA TEMPÉRATURE.

Les spectres représentés sur la *Figure 4* montrent l'apparition d'une bande d'absorption dont la longueur d'onde du maximum d'absorption est voisine de 630-635 nm correspondant à l'observation d'une coloration bleue-verte prise par la solution qui s'intensifie au fur et à mesure que la température décroît. On peut aussi remarquer que cette absorption nouvelle n'est apparente (pour les concentrations utilisées) qu'à partir de -80°C . environ, que l'absorption subit également une poussée pour des longueurs d'onde supérieures à 700 nm et qui se maintient dans le rouge lointain (enregistrement des spectres jusqu'à 800 nm), que pour un même écart de température l'augmentation de densité optique est d'autant plus grande que les températures sont plus proches du point de congélation de la solution hydro-alcoolique. La réversibilité du phénomène peut être montrée par enregistrement des spectres de la solution entre 400 et 800 nm pour différentes températures au cours du réchauffement progressif et par paliers de la solution.

b) Evolution en fonction de la température de l'absorption d'une solution de phénothiazine base et de toluquinone dans le solvant ternaire.

Le phénomène précédemment décrit est également observé lorsqu'on remplace la benzoparaquinone par la toluquinone. Les enregistrements obtenus dans des conditions identiques sont représentés sur la *Figure 5*. Seules les concentrations finales respectives sont différentes : phénothiazine base $1,25 \cdot 10^{-3}\text{ M}$, toluquinone $1 \cdot 10^{-2}\text{ M}$. Les spectres obtenus en fonction de la température conduisent aux mêmes observations.

La réversibilité du phénomène a été mise en évidence et est représentée sur la *Figure 6*.

c) Evolution en fonction de la température de l'absorption d'une solution de chlorhydrate de chlorpromazine et de toluquinone dans le solvant ternaire.

La solution étudiée renferme le chlorhydrate de chlorpromazine à une concentration de $7,5 \cdot 10^{-3}$ M et la toluquinone à la concentration $1 \cdot 10^{-2}$ M. L'apparition d'une nouvelle bande d'absorption dans le spectre visible sous l'influence de l'abaissement de température - si elle est moins spectaculaire - n'en est pas moins évidente. *Figure 7*. Elle apparaît nettement sur les enregistrements obtenus après correction des densités optiques en tenant compte de la ligne de base tracée à $+22^{\circ}$ C. et des variations des masses volumiques dues à l'abaissement de température. Les spectres corrigés, représentés sur la *Figure 8* montrent une bande d'absorption nouvelle dont la longueur d'onde du maximum est très voisine de 500 nm.

A cette longueur d'onde, nous avons également étudié la réversibilité du phénomène. *Figure 9*.

d) Etudes d'autres dérivés de la phénothiazine.

Nous avons successivement utilisé :

- la chlorpromazine base et la lévomépromazine base;
- le chlorhydrate de lévomépromazine;
- la chloro-3 phénothiazine et la méthoxy-3 phénothiazine dont dérivent respectivement la chlorpromazine et la lévomépromazine.

L'accepteur d'électron était la benzoparaquinone, mais nous avons obtenu les mêmes résultats qualitatifs avec la toluquinone.

Les spectres obtenus pour chacun de ses dérivés et en fonction de l'abaissement de température sont représentés sur les *Figures 10* et *11* pour le chlorhydrate de lévomépromazine, *12* pour la chlorpromazine base, *13* pour la lévomépromazine base.

Plusieurs observations peuvent être faites par la comparaison de ces divers enregistrements :

- a.- Les nouvelles absorptions obtenues sont toutes situées dans le spectre visible et rassemblées entre 500 et 650 nm; les valeurs des longueurs d'onde des maxima d'absorption sont les suivantes :

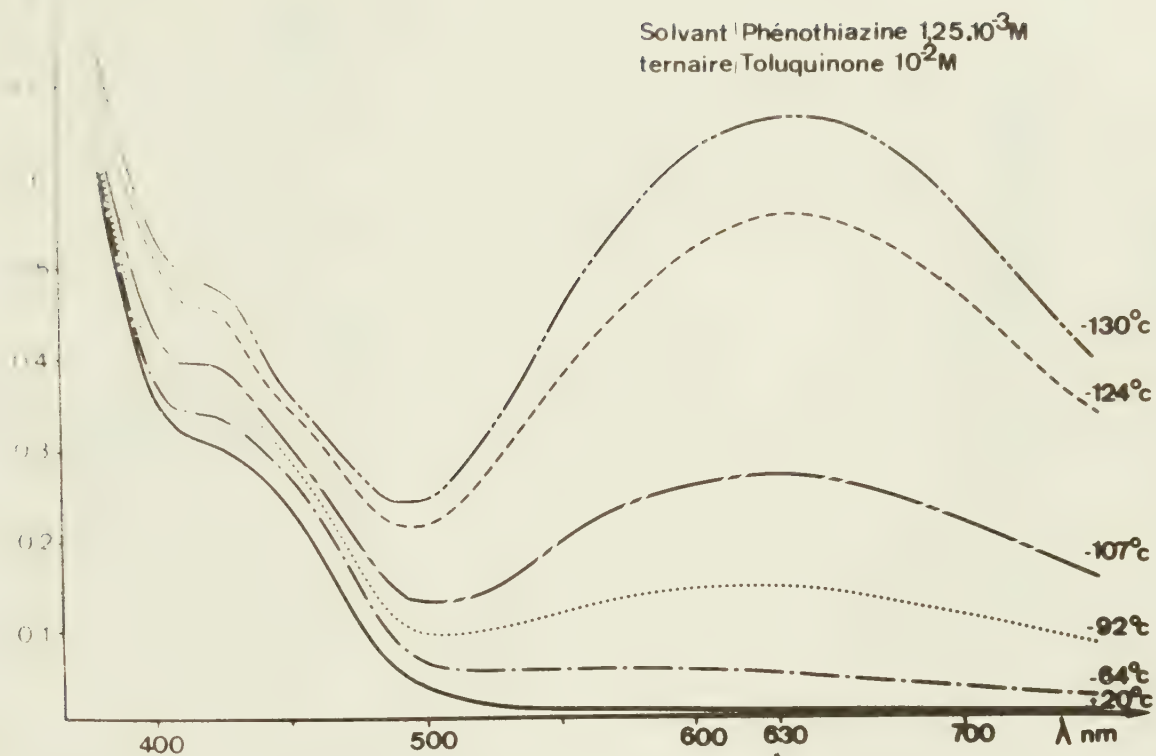


FIGURE 5 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE PHENOTHIAZINE ET DE TOLUQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSEMENT DE LA TEMPERATURE.

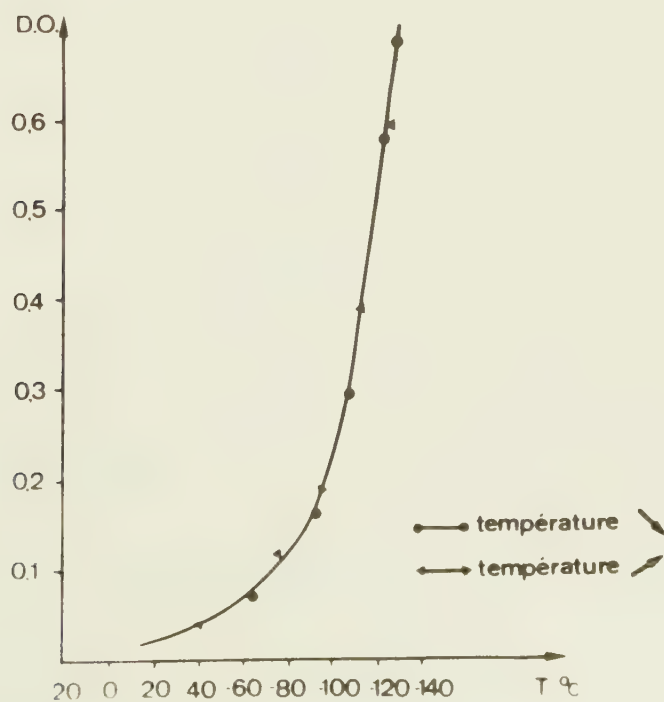


FIGURE 6 - ETUDE DE LA REVERSIBILITE DE LA VARIATION D'ABSORPTION EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.
(Valeurs des densités optiques à 630 nm)

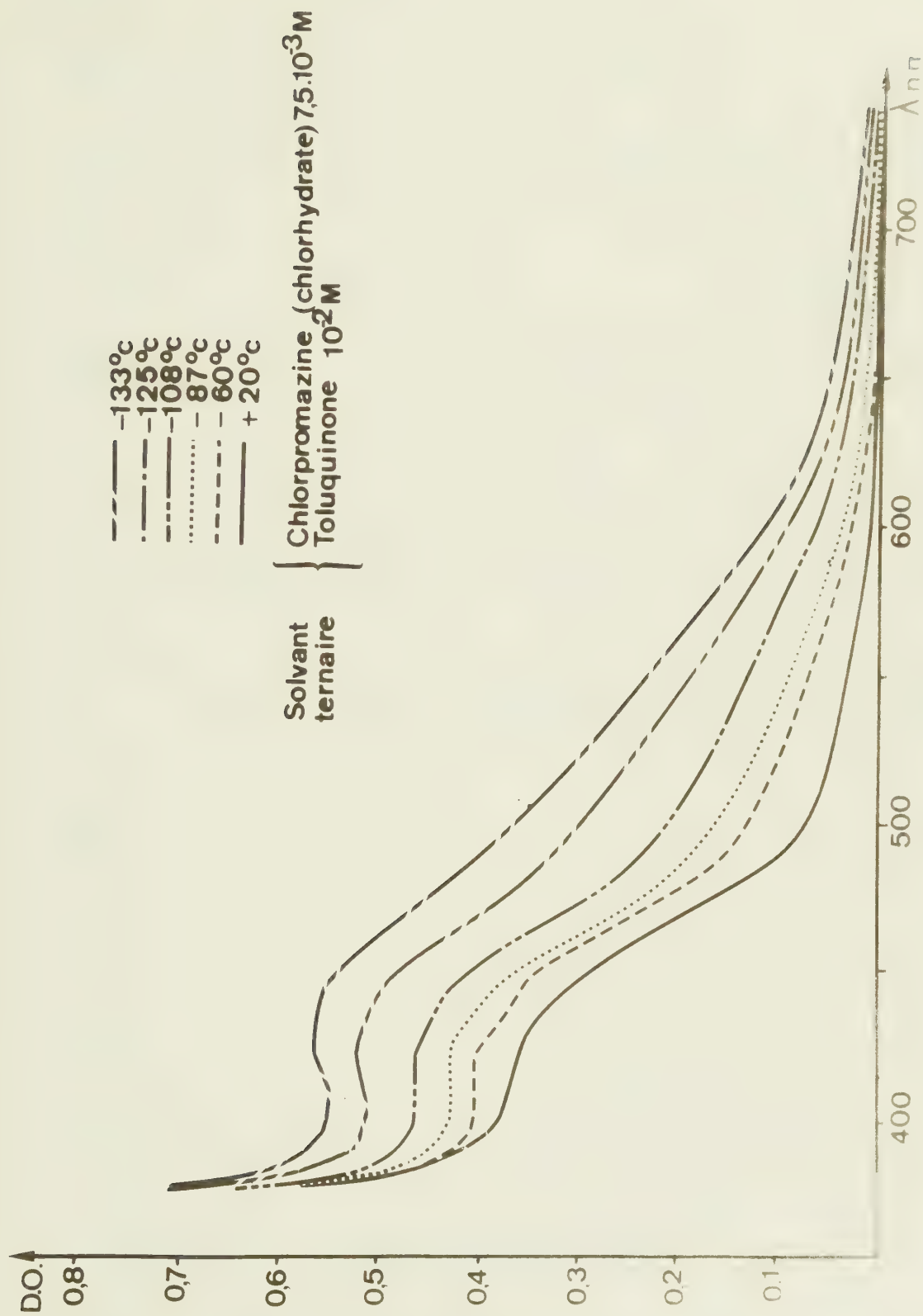


FIGURE 7 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE CHLORHYDRATE DE CHLORPROMAZINE ET DE TOLUQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSMENT DE LA TEMPERATURE.

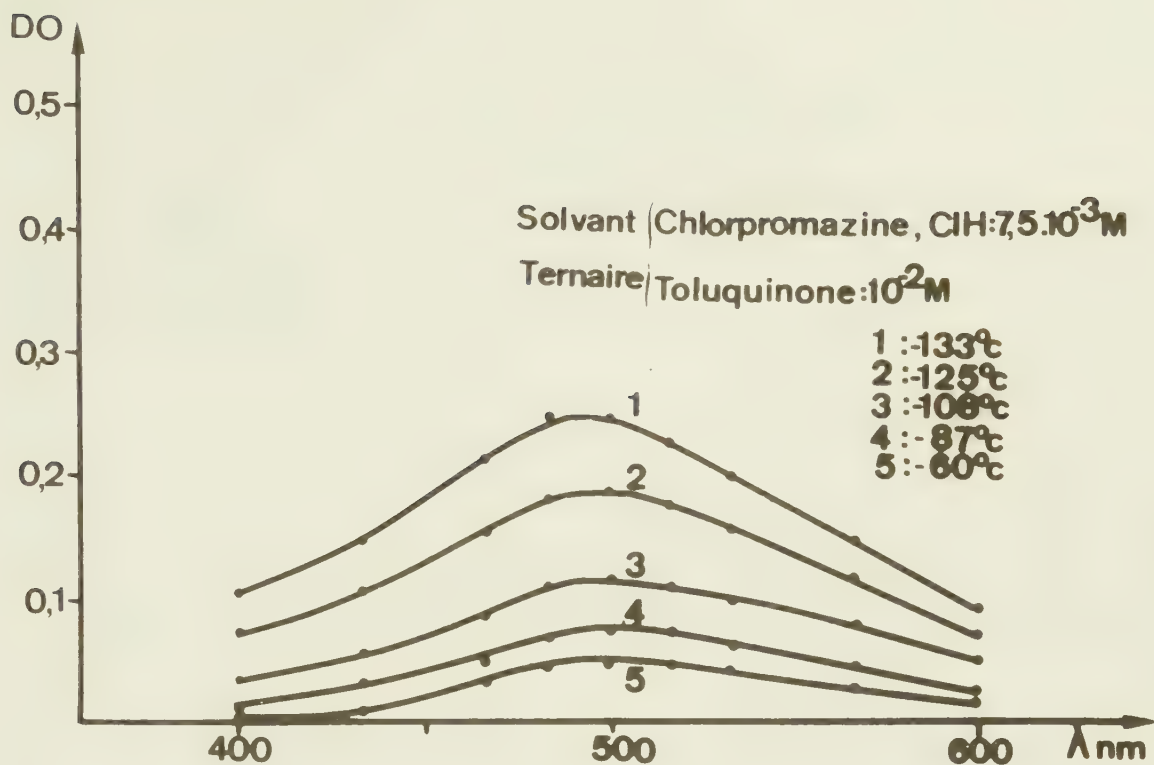


FIGURE 8 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE CHLORHYDRATE DE CHLORPROMAZINE ET DE TOLUQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSEMENT DE LA TEMPERATURE (corrigés par soustraction du spectre d'absorption de la solution à $+20^{\circ}C$.)

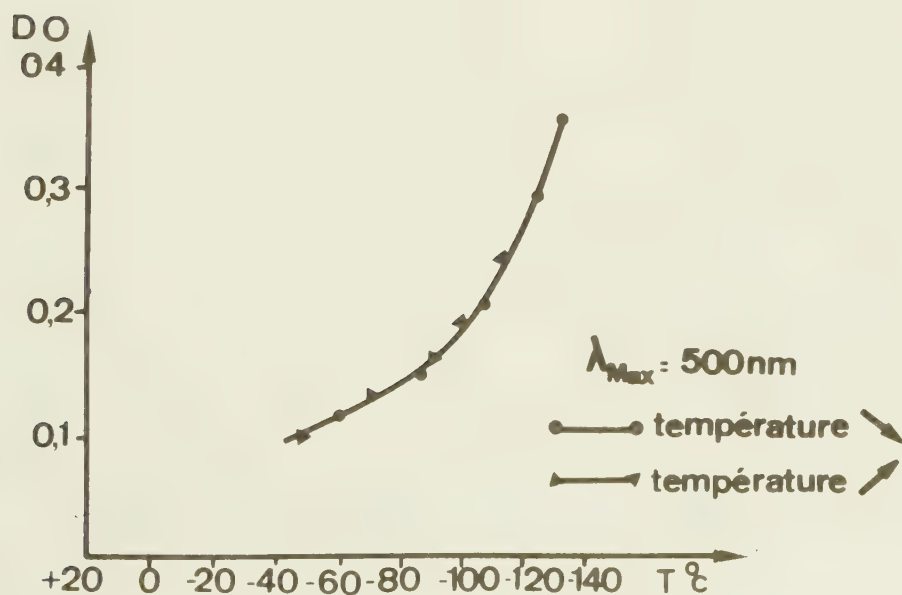


FIGURE 9 - ETUDE DE LA REVERSIBILITE DE LA VARIATION D'ABSORPTION EN FONCTION DE LA TEMPERATURE.
 (Valeurs des densités optiques à 500 nm)

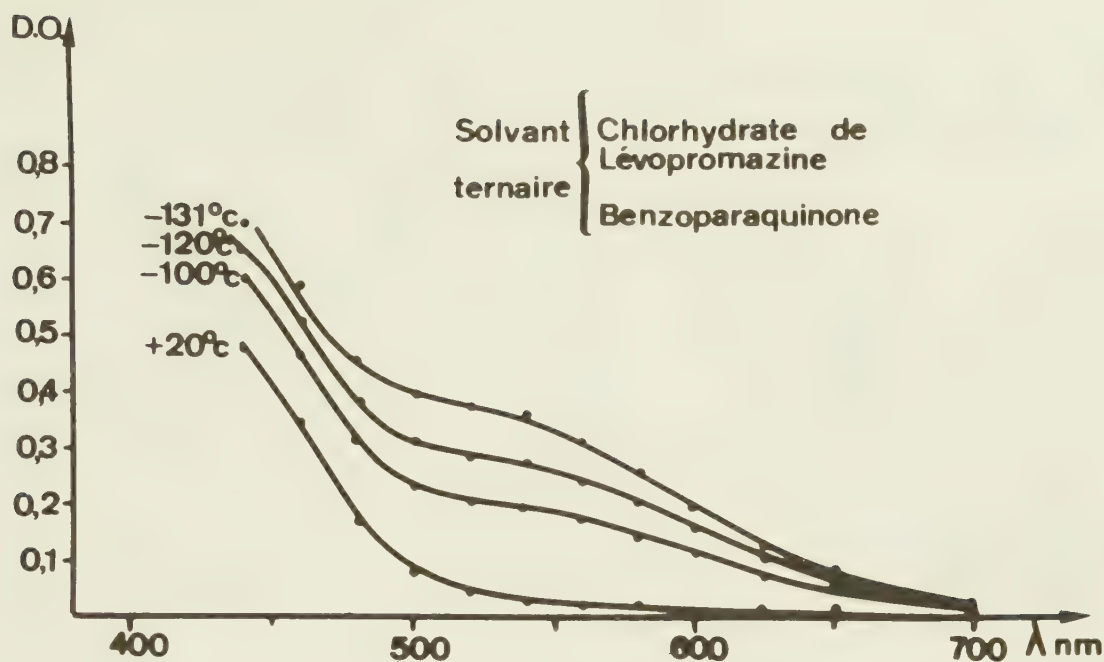


FIGURE 10 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE CHLORHYDRATE DE LEVOMEPROMAZINE ET DE BENZOPARAQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSEMENT DE LA TEMPERATURE.

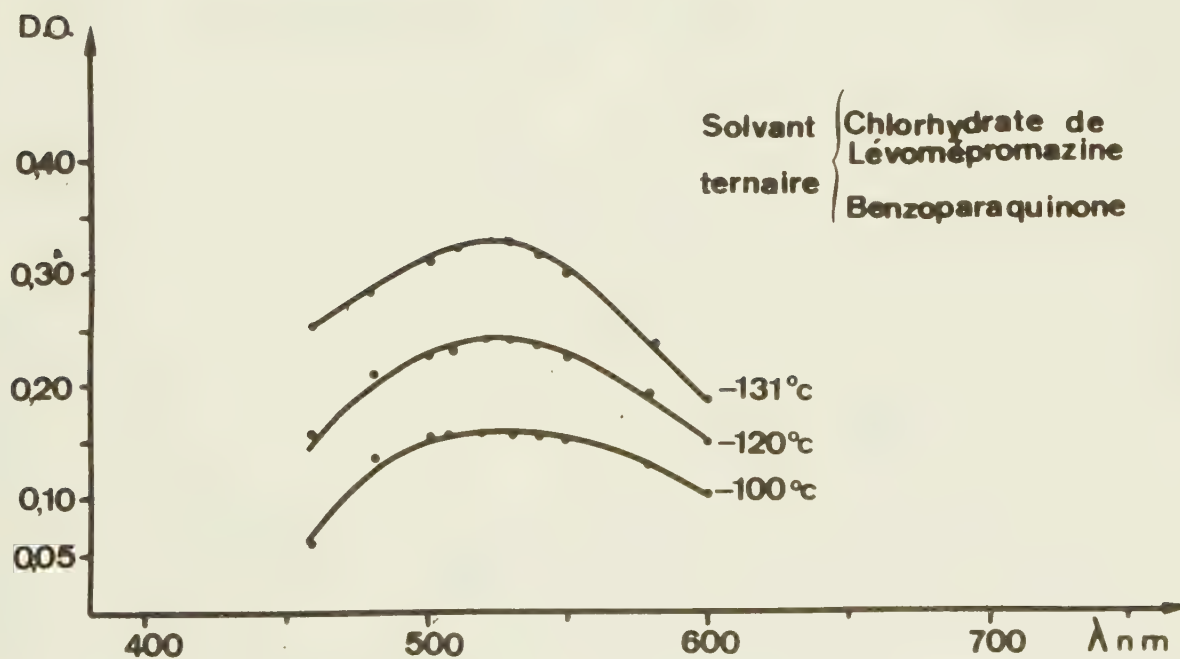


FIGURE 11 - *Idem* FIGURE 10. Spectres corrigés par soustraction du spectre d'absorption de la solution à +20° C.

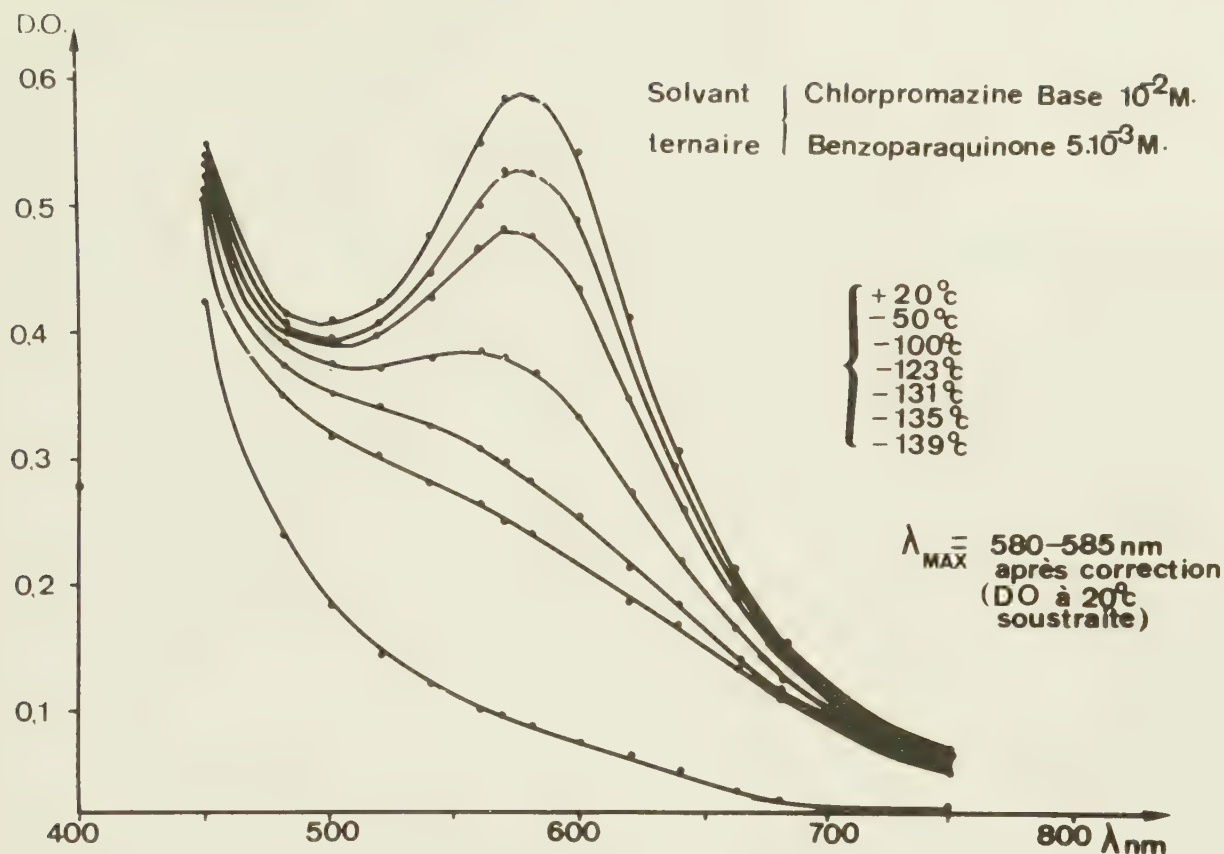


FIGURE 12 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE CHLORPROMAZINE BASE ET DE BENZOPARAQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSMENT DE LA TEMPERATURE.

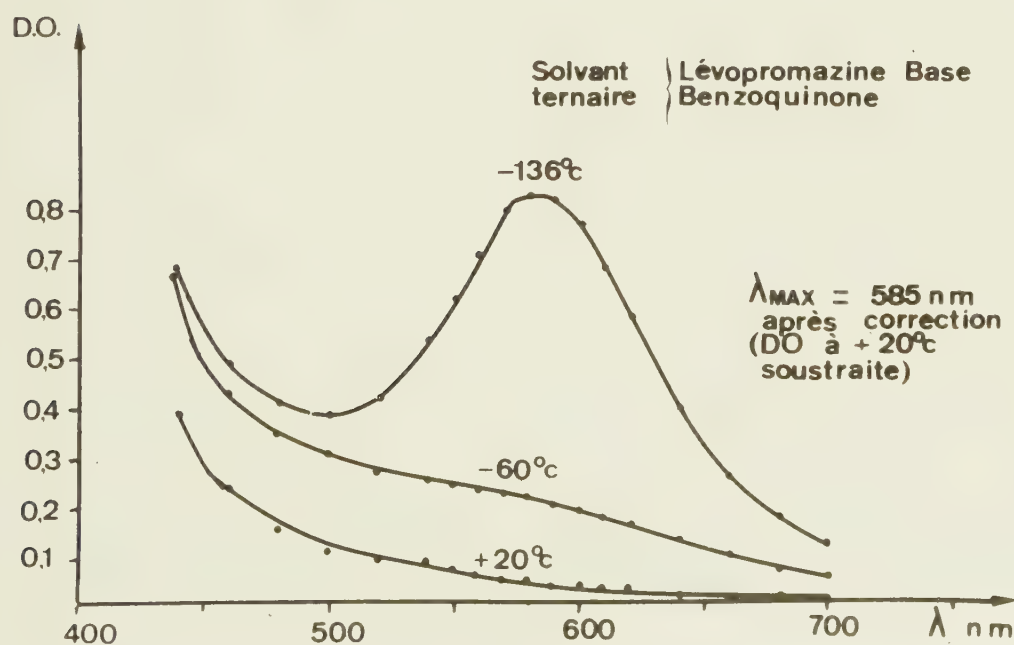


FIGURE 13 - SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION DE LEVOMEPRIMAZINE BASE ET DE BENZOPARAQUINONE DANS LE SOLVANT TERNAIRE EN FONCTION DE L'ABAISSMENT DE LA TEMPERATURE.

phénothiazine base	630 - 635 nm
chlorpromazine base	580 - 585 nm
lévomépromazine base	585 nm
chlorpromazine HCl	500 nm
lévomépromazine HCl	525 nm
chloro-3 phénothiazine	600 - 605 nm
méthoxy-3 phénothiazine	630 - 635 nm

b - Les divers enregistrements obtenus l'ont été à partir de solutions contenant les donneurs d'électrons à des concentrations voisines de $5 \cdot 10^{-3}$ M, donc sensiblement identiques à celles utilisées dans les expériences de KNOESEL et Coll. (94).

c - Les réactions obtenues sont entièrement réversibles. Les spectres d'absorption à 0° C. enregistrés avant et après l'abaissement de température sont superposables.

Le phénomène peut être répété plusieurs fois consécutives.

d - L'étude en spectroscopie hertzienne, effectuée dans les mêmes conditions expérimentales que celles décrites pour les mesures de variations d'absorption optique, ne montre pas l'existence d'espèces radicalaires quelle que soit la température. Une telle observation exclut l'existence d'une réaction d'oxydo-réduction et confirme la formation d'un authentique complexe par transfert de charge.

114 - Etude de la stoechiométrie du complexe formé entre la phénothiazine base et la benzoparaquinone.

Pour cette étude nous avons utilisé la méthode des variations continues de JOB (86) qui nous a conduits aux manipulations décrites ci-dessous :

a) Les spectres d'absorption en fonction de la température ont été enregistrés sur des solutions (dans le solvant ternaire) à concentration

totale constante $1 \cdot 10^{-2}$ M pour l'ensemble des deux composés, préparées par mélange en proportions variables des deux solutions respectives équimoléculaires, de concentration $1 \cdot 10^{-2}$ M. Les concentrations respectives de la phénothiazine base et de la benzoparaquinone varient donc en sens inverse tout en maintenant une concentration molaire finale constante.

Onze solutions ont ainsi été soumises à l'analyse. Leur préparation et leur composition sont rassemblées dans le *Tableau II*

Solution N°	Volume de solution de PHENOTHIAZINE 10^{-2} M	Volume de solution de BENZO- PARAQUINONE 10^{-2} M	Concentration finale en PHENOTHIAZINE	Concentration finale en BENZOPARA- QUINONE
1	0	10	0	$1 \cdot 10^{-2}$ M
2	1	9	$1 \cdot 10^{-3}$ M	$9 \cdot 10^{-3}$ M
3	2	8	$2 \cdot 10^{-3}$ M	$8 \cdot 10^{-3}$ M
4	3	7	$3 \cdot 10^{-3}$ M	$7 \cdot 10^{-3}$ M
5	4	6	$4 \cdot 10^{-3}$ M	$6 \cdot 10^{-3}$ M
6	5	5	$5 \cdot 10^{-3}$ M	$5 \cdot 10^{-3}$ M
7	6	4	$6 \cdot 10^{-3}$ M	$4 \cdot 10^{-3}$ M
8	7	3	$7 \cdot 10^{-3}$ M	$3 \cdot 10^{-3}$ M
9	8	2	$8 \cdot 10^{-3}$ M	$2 \cdot 10^{-3}$ M
10	9	1	$9 \cdot 10^{-3}$ M	$1 \cdot 10^{-3}$ M
11	10	0	$1 \cdot 10^{-2}$ M	0

TABLEAU II

Les spectres d'absorption pour chacune des solutions précédentes ont été enregistrés entre 400 et 750 nm, pour des paliers de température voisins des valeurs suivantes :

+ 20° C. -100° C. -110° C. -120° C. -130° C. -135° C.

Les solutions de phénothiazine base et de benzoparaquinone ont été préparées extemporanément.

b) Après enregistrement, nous avons tracé la courbe représentant la variation de la densité optique de chaque solution à la longueur d'onde du maximum d'absorption, en fonction de la température et après avoir effectué les corrections suivantes :

- correction due à la contraction de volume en utilisant les valeurs des coefficients déterminées pour chaque température;
- soustraction de la densité optique de la ligne de base à la température du laboratoire (enregistrement avant l'abaissement de température).

Le *Tableau I* représente les masses volumiques en fonction de la température pour le solvant ternaire. Elles ont été déterminées expérimentalement par DEBEY et coll. (33). Le facteur de correction applicable aux densités optiques enregistrées pour une température déterminée est obtenu par le quotient de la valeur de la masse volumique à + 22° C. par la valeur de la masse volumique à la température mesurée.

Par exemple :

T = + 22° C. Masse volumique (MV) du solvant ternaire à cette température = 0,856

Facteur de correction des densités optiques = 1.

T = -116° C. Masse volumique (MV) du solvant ternaire à cette température = 0,967

Facteur de correction des densités optiques à cette température :

$$F = \frac{0,856}{0,967} = 0,885$$

Toutes les densités optiques lues à cette température doivent être multipliées par ce coefficient. On obtient ainsi la valeur DOC 1.

Des valeurs de densité qui résultent de cette correction, il convient ensuite de soustraire la densité optique à la même longueur d'onde de la solution à $+ 22^{\circ} \text{C}$. On obtient alors la valeur DOC 2.

Le *Tableau III* donne un exemple des calculs effectués pour la solution N° 7. L'ensemble de ces calculs permet, de plus, de déterminer avec précision la valeur de la longueur d'onde du maximum d'absorption qui se trouve décalée par rapport à celle qui apparaissait sur l'enregistrement.

Il est alors possible de tracer la courbe de la variation de la densité optique au maximum d'absorption en fonction de la température pour une solution déterminée. Les *Figures 14* et *15* représentent les courbes obtenues pour les solutions n° 7 et n° 4.

Les courbes correspondant aux onze solutions étudiées ont été successivement tracées selon les modalités précisées ci-dessus.

b) Etablissement de la courbe de JOB.

Cette courbe a été tracée pour quatre températures différentes : -100°C , -110°C , -120°C , -130°C .

Chacune des courbes obtenues représente, pour une température déterminée, et à la longueur d'onde du maximum d'absorption du complexe (630 nm), la variation de densité optique pour chaque solution c'est-à-dire en fonction des concentrations respectives du donneur et de l'accepteur pour une molarité finale constante. Les quatre courbes de JOB sont représentées sur la *Figure 16*.

115 - DISCUSSION

Les résultats que nous venons de rapporter montrent que, dans les conditions expérimentales décrites, des complexes par transfert de charge se forment entre la phénothiazine et quelques uns de ses dérivés utilisés en thérapeutique d'une part, des molécules de nature quinonique d'autre part.

mV	T ° C.	MV	F	D O lue à 630 nm	D O lue à 630 nm x F	(D O lue à 630 nm x F) - D O à +21° C.
0,89	+ 21	0,856	1,000	0,035	0,035	0
- 2,79	- 77	0,935	0,916	0,121	0,111	0,076
- 3,29	- 92	0,947	0,904	0,180	0,163	0,128
- 3,82	-110	0,962	0,890	0,289	0,257	0,222
- 4,09	-120	0,970	0,883	0,375	0,331	0,296
- 4,26	-126	0,975	0,879	0,462	0,407	0,372
- 4,30	-128	0,976	0,878	0,498	0,438	0,403
- 4,38	-131	0,978	0,876	0,535	0,468	0,433

mV	:	Force électromotrice obtenue (référence 0° C.)
	:	(Force électromotrice obtenue entre l'azote liquide et la glace
	:	fondante : - 5,68 mV correspondant à - 195° C
T ° C.	:	Températures correspondantes en degrés Celsius.
MV	:	Valeur de la masse volumique du solvant ternaire en fonction de la température.
F	:	Facteur de correction des densités optiques pour chaque température

$$F = \frac{MV \text{ à } 21^{\circ} C.}{MV \text{ à } T^{\circ} C.}$$

TABLEAU III

EXEMPLE DE CALCULS EFFECTUES POUR LA DETERMINATION PRECISE DE LA
 VARIATION DE DENSITE OPTIQUE D'UNE SOLUTION EN FONCTION DE L'ABAI-
 SEMENT DE LA TEMPERATURE (à la λ max. d'absorption du complexe).

A - En effet, l'enregistrement des spectres d'absorption entre 400 et 750 nm montre :

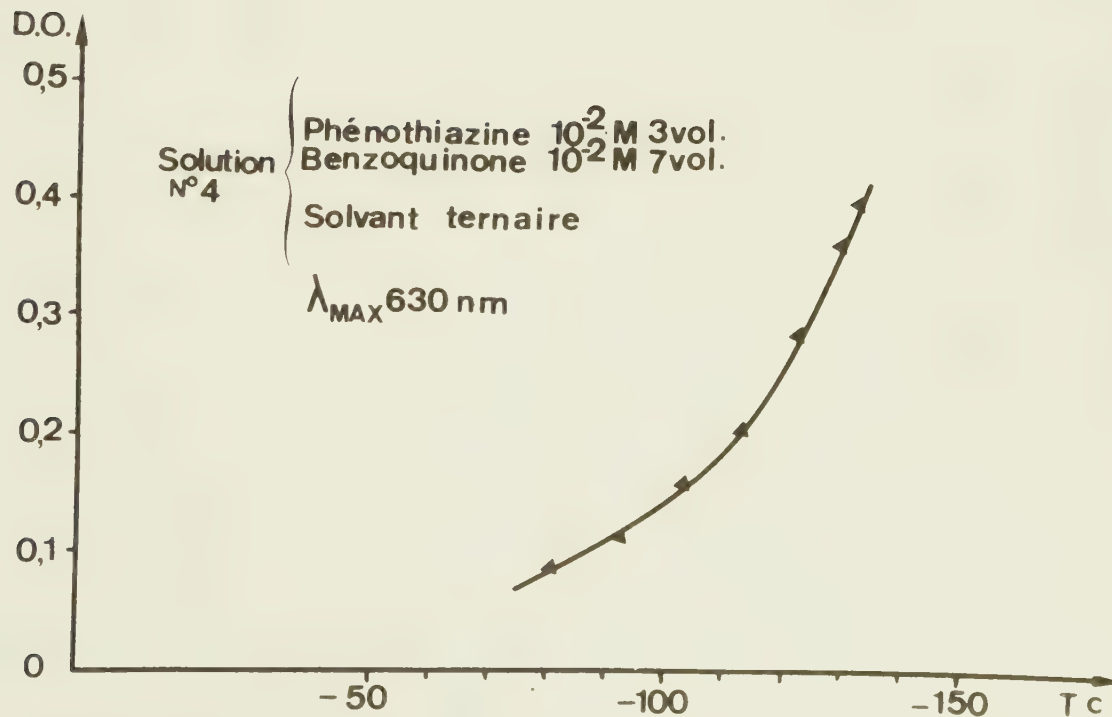
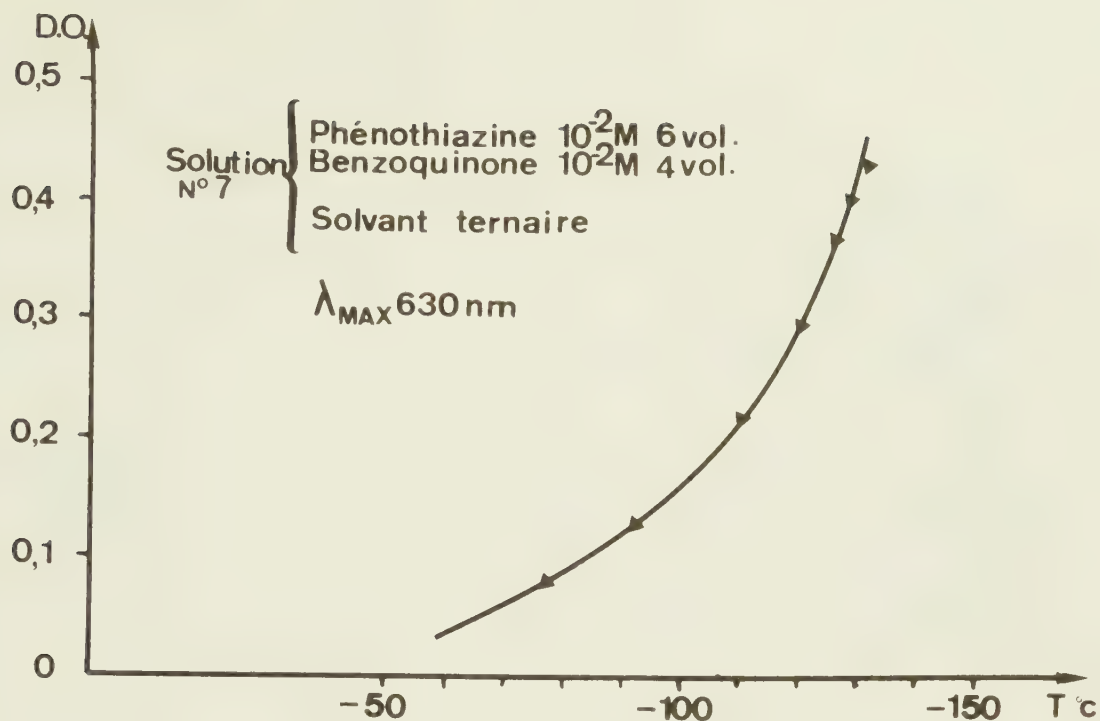
- a) l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption décalée vers les grandes longueurs d'onde par rapport à l'absorption des constituants de la solution;
- b) l'augmentation de l'intensité de l'absorption avec l'abaissement de la température;
- c) la réversibilité du phénomène lors de la remontée de température.

D'autre part, les courbes de JOB montrent que la stoechiométrie du complexe phénothiazine - benzoparaquinone est d'ordre 1 : 1.

Il n'a pas été possible, dans les conditions expérimentales décrites, de déterminer avec précision le coefficient d'extinction (ϵ) et la constante d'association (K) de ce complexe. Cette détermination se fait par la méthode de BENESI et HILDEBRAND (6), méthode graphique conduisant aux valeurs de $\frac{1}{\epsilon}$ et de $\frac{1}{K}$, ce qui pour des valeurs relativement importantes de ϵ conduit à des mesures graphiques très faibles. Celles-ci sont entachées d'une grande incertitude étant donné que le dispositif que nous avons utilisé ne permettait pas des mesures très précises de température, pas plus qu'il ne conduisait à une stabilité et à une reproductibilité de ces températures, compatibles avec une détermination acceptable des constantes précédentes.

B - L'acidification de la solution, dans laquelle les complexes ont pu être formés, fait apparaître le spectre d'absorption caractéristique du radical cation de la phénothiazine. Les complexes par transfert de charge obtenus précédemment peuvent donc être considérés comme une étape préliminaire à la réaction d'oxydo-réduction qui engendre les radicaux libres de la phénothiazine et de ses dérivés qui seront envisagés dans le chapitre suivant.

C - Il est enfin intéressant de remarquer que ces complexes par transfert de charge se forment à pH très voisin de la neutralité. On connaît en effet le rôle de transporteurs d'électrons des quinones dans la



FIGURES 14 et 15 : COURBES DE VARIATIONS DES DENSITES OPTIQUES A 630 nm DES SOLUTIONS N° 4 et 7 DE PHENOTHIAZINE et de BENZOPARAQUINONE EN FONCTION DE L'ABAISSMENT DE LA TEMPERATURE (après correction tenant compte de l'absorption de la solution à +20° C. et de la variation de la masse volumique).

Courbes de JOB (Phénothiazine - Benzoparaquinone)

- - 100°C
- ◼ - 110°C
- ◻ - 120°C
- - 130°C

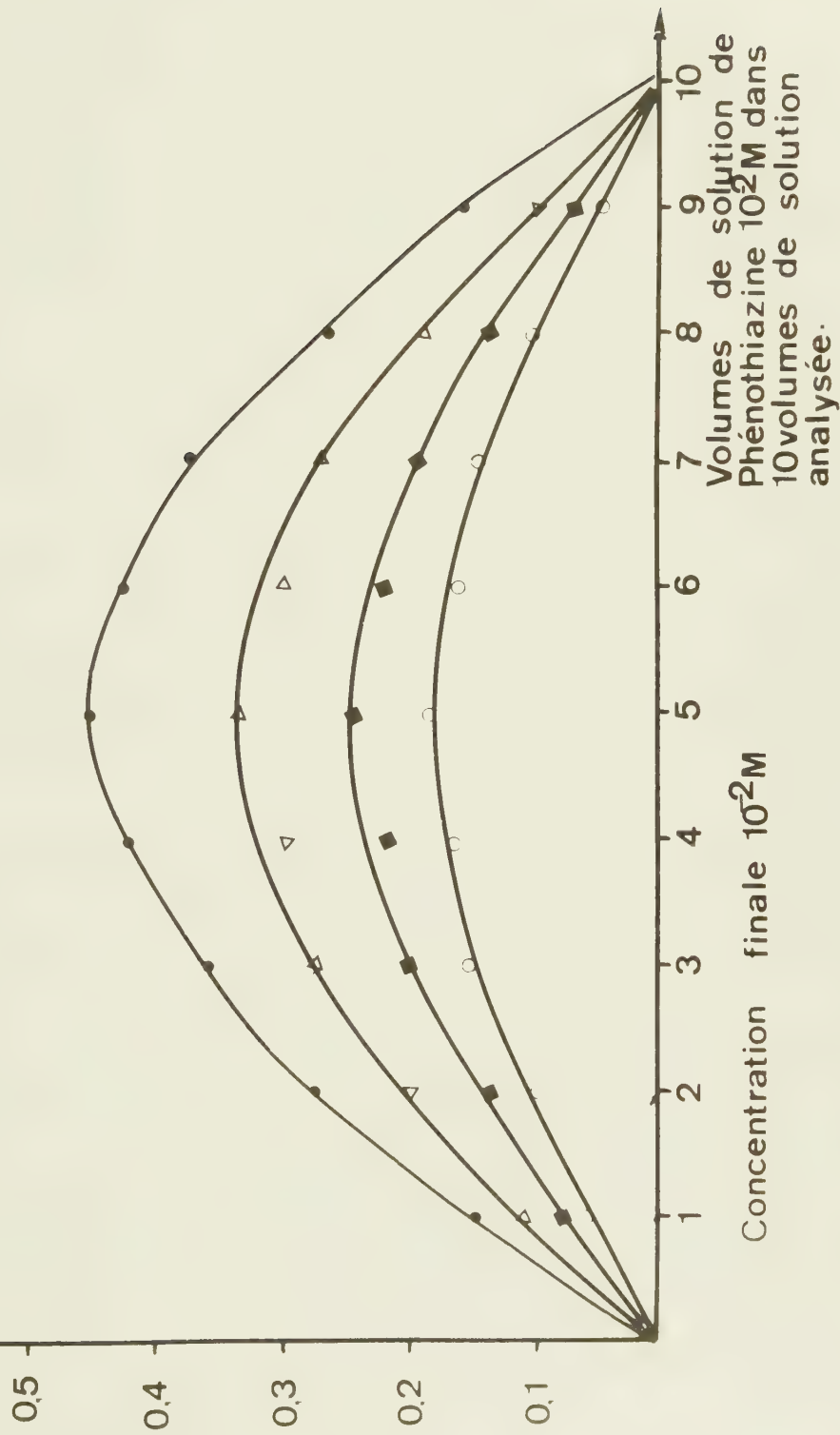


Fig 16

mitochondrie. Les résultats expérimentaux précédents sont donc des arguments en faveur de l'hypothèse que la formation de tels complexes pourrait intervenir dans l'action biologique des dérivés phénothiaziniques, hypothèse envisagée par divers auteurs ayant obtenu dans d'autres conditions expérimentales des complexes par transfert de charge entre les flavines et la chlorpromazine.

12 - FORMATION DE RADICAUX LIBRES.

L'intérêt des complexes par transfert de charge que nous venons de mettre en évidence et d'analyser, est qu'ils constituent une étape préparatoire à l'oxydo-réduction monoélectronique qu'il convient maintenant d'envisager. En effet, la réaction d'un accepteur d'électron sur une molécule comme la phénothiazine doit conduire à la priver d'un électron, donc à engendrer par voie chimique une espèce moléculaire transitoire possédant un nombre impair d'électrons : le radical libre (radical cation D^+).

Les radicaux libres ont, en général, une durée de vie très brève car ils tendent rapidement à entrer dans des réactions conduisant à l'appariement de l'électron célibataire. Parfois il faut utiliser des artifices techniques tels que le "flow system" pour mettre en évidence ces formes radicalaires par l'intermédiaire des propriétés spectroscopiques particulières qu'ils manifestent.

Seules quelques molécules organiques conduisent à des radicaux libres relativement stables : il en est ainsi pour les dérivés de la phénothiazine comme nous le verrons ci-dessous.

Les radicaux libres possèdent des propriétés spectroscopiques particulières liées à leur paramagnétisme. Celui-ci est du au fait que le moment magnétique de l'électron célibataire (moment magnétique de spin) n'est plus annulé par le moment magnétique anti-parallèle de l'électron avec lequel il était apparié avant la formation du radical.

121 - Le phénomène de résonance paramagnétique électronique (R.P.E.).

Ce phénomène est aussi désigné par l'expression anglo-saxonne "electron spin resonance" ou E.S.R. (ou encore "electron paramagnetic resonance" E.P.R.) puisque dans la très grande majorité des cas, le paramagnétisme est interprété à partir d'espèces atomiques ou moléculaires ou d'électrons isolés, portant simplement un spin électronique non compensé.

Ce phénomène consiste à induire des transitions entre les différents états quantifiés qu'un moment magnétique électronique peut prendre lorsqu'il est placé dans un champ magnétique qui lui est imposé. Ces transitions sont induites par l'absorption de certaines fréquences de radiations électromagnétiques dont la détermination représente la spectrométrie par résonance paramagnétique électronique.

On sait que tout électron non apparié est caractérisé par un moment cinétique auquel est associé un moment magnétique. Dans un champ magnétique H imposé de l'extérieur, l'électron est animé d'un mouvement de précession comme un gyroscope à une fréquence ν_0 qui dépend de l'intensité du champ magnétique qui lui est appliqué. Cette précession s'effectue autour de la direction de H , le moment magnétique de l'électron étant orienté dans le sens du champ H (constant).

La valeur de la fréquence du mouvement de précession est donnée par la formule suivante (équation de LARMOR) : $2\pi\nu_0 = \gamma H$ dans laquelle γ est le rapport du moment magnétique de l'électron à son moment cinétique (rapport gyromagnétique).

Le moment magnétique de l'électron est égal à $g\beta$, g étant un rapport qui tient compte des orientations réciproques des vecteurs représentant le mouvement orbital et le mouvement de spin de l'électron, et β le magnéton de BOHR. Le moment angulaire de l'électron est égal à $\frac{h}{2\pi}$ h étant la constante de PLANK. $\gamma = \frac{g\beta 2\pi}{h}$

De l'ensemble des valeurs précédentes, on peut écrire :

$$\nu_0 = \frac{g\beta H}{h}$$

Or l'électron peut être assimilé à un petit aimant de moment $M = g\beta S$ où S peut prendre les valeurs $+\frac{1}{2}$ et $-\frac{1}{2}$.

Ces deux valeurs de spin conduisent à deux orientations possibles de l'aimant : soit une orientation parallèle à la direction du champ H correspondant à un niveau d'énergie $E_A = -\frac{1}{2} g \beta H$, soit une orientation antiparallèle à la direction du champ H correspondant à un niveau d'énergie $E_B = +\frac{1}{2} g \beta H$.

Le niveau d'énergie E_A qui est le plus faible, caractérise l'état stable de l'électron, tandis que le niveau d'énergie E_B correspond à un état excité qui pourra être atteint si l'électron reçoit une énergie ($h\nu$) égale à la différence des niveaux d'énergie $E_B - E_A$. Cette transition peut donc être réalisée sous l'influence d'une radiation électromagnétique de fréquence $\nu = \frac{g\beta H}{h}$. Lorsque ν égale ν_0 , il y a résonance et absorption d'énergie h électromagnétique par le système de spins.

Cette relation simplifiée doit être complétée en pratique, en tenant compte de nombreuses interactions de l'électron célibataire avec les autres particules; ce sont principalement les interactions spin-orbite, les interactions spin-spin, et surtout les interactions noyau-électron, dues à la présence dans la molécule de noyaux possédant eux-mêmes un moment magnétique. Cette propriété permet de connaître avec précision la répartition de l'électron célibataire d'un radical sur l'ensemble de la molécule.

En pratique, un électro-aimant fournit un champ H très stable mais dont la valeur peut varier lentement afin de détecter la résonance pour une fréquence de $9 \cdot 10^9$ c/seconde qui correspond à une longueur d'onde de 3 cm. La technologie des hyperfréquences de cet ordre est bien au point et correspond à une valeur de l'induction de H voisine de 3500 gauss qui est assez facile à obtenir. L'absorption d'énergie de la radiofréquence, qui permet d'inverser le sens du spin du centre paramagnétique donc de provoquer la transition, correspond à un signal de R.P.E. qui est enregistré sous la forme d'une dérivée (dérivée de l'énergie de résonance en fonction du champ magnétique appliqué).

122 - Contenu des signaux du R.P.E.

a) Une des caractéristiques essentielles de tout signal est représentée par le facteur g , déjà introduit dans les calculs précédents. Pour un électron non apparié délocalisé sur une surface moléculaire conjuguée, ce qui est le cas pour les radicaux phénothiaziniques, le mouvement orbital est de symétrie sphérique, le moment angulaire orbital est donc nul, et g possède alors la valeur du spin "libre" soit 2,0023.

Cette valeur de g caractérise donc la position du signal.

b) D'une manière très générale, la largeur des raies de résonance du spectre est la résultante de causes intramoléculaires et de causes externes dues à l'influence du milieu utilisé. La largeur moyenne d'une raie est liée à la durée de vie d'un état magnétique et est influencable par la température, et par diverses interactions.

c) La caractéristique la plus importante des signaux est constituée par l'étude de sa structure hyperfine, c'est-à-dire de la résolution du signal en un certain nombre de "raies". L'écart qui sépare ces raies est inversement proportionnel à l'interaction de l'électron avec les noyaux, ce qui permet en particulier de pouvoir déterminer la répartition de la densité de spin électronique sur l'ensemble de la molécule.

123 - Appareillage utilisé.

Les spectres de résonance paramagnétique électronique ont été enregistrés sur un spectromètre VARIAN E₃. Nous avons utilisé des cellules en quartz pour solutions aqueuses V - 4548 étant donné la forte absorption diélectrique des solvants utilisés.

Un système analogue à celui décrit pour l'étude des complexes par transfert de charge en spectroscopie optique et permettant des mesures à basse température a également été utilisé.

124 - Formation de radicaux cations phénothiaziniques.

La capacité des phénothiazines à former des radicaux libres par départ d'un électron a été démontrée par spectrométrie de résonance paramagnétique électronique dès 1961 par LAGERCRANTZ (100) et en 1962 par PIETTE et FORREST (128). Ces auteurs ont montré que l'oxydation de dérivés tels que la chlorpromazine, la promazine, la trifluopromazine, la trifluopérazine par les sels ferriques ou les sels cériques en milieu acide conduisait à la formation de radicaux cations identiques à ceux qui pouvaient être obtenus par oxydation électrochimique.

D'une manière générale, tous les oxydants conduisent à la formation de radicaux phénothiaziniques. C'est ainsi que LHOSTE et TONNARD (104), GAGNAIRE et coll. (66) ont utilisé l'acide sulfurique concentré tandis que de nombreux auteurs parmi lesquels F. et I. FORREST ont préparé ces formes radicalaires par action de divers oxydants minéraux dans des solutions très acides. Avec VIOSSAT, LETERRIER et DOUZOU, nous avons utilisé le pentachlorure d'antimoine pour engendrer par voie chimique - dans un milieu anhydre (dichloroéthane) - des radicaux cations supportant des colorations que nous avons tenté d'exploiter à des fins analytiques (110).

Plusieurs méthodes utilisant l'oxydation électrochimique de la phénothiazine et ses dérivés ont également été décrites. En particulier BILLON et ses collaborateurs (11, 12, 13, 14) ont étudié les propriétés oxydo-réductrices des phénothiazines (placées en solution dans l'acéto-nitrile) par électrolyse. Avec THIERY, CAPETTE et LETERRIER (148) nous avons également étudié ces radicaux cations en R.P.E. par électrolyse des dérivés de la phénothiazine placée en solution chlorhydrique (9 ml de HCl 2,0 N ont été ajoutés à 1 ml de solution de phénothiazine dans la diméthylformamide). L'électrolyse a été conduite dans la cellule V - 4556 entre une anode au mercure et une cathode en toile de platine. C'est dans ces conditions que nous avons obtenu les meilleurs résultats; mais la méthode électrochimique, parfaitement adaptée pour l'étude des radicaux en R.P.E., se prête mal à une exploitation analytique.

Les procédés chimiques jusqu'alors décrits - parmi lesquels ceux rappelés précédemment - peuvent présenter divers inconvénients:

mauvaise résolution spectrale, introduction d'autres espèces paramagnétiques (ions ferriques), pouvoir oxydant très variable conduisant à des cinétiques de développement différentes, pouvoir oxydant trop important ne permettant pas la reproductibilité dans la formation des radicaux et diminuant leur stabilité.

Les résultats obtenus en milieu neutre avec la benzoparaquinone nous ont amenés à étudier son action en milieu acide. L'étude analytique sera envisagée plus loin. Mais nous avons d'abord vérifié par la R.P.E. que cet accepteur d'électron était capable d'engendrer par voie chimique, dans un milieu très acide, des radicaux cations phénothiaziniques.

La *Figure 17* représente le spectre de R.P.E. de la phénothiazine base dans les conditions expérimentales suivantes :

- solution dans HCl ($d = 1,18$) dilué avec $1/4$ de son volume d'eau;
- concentration en phénothiazine base 10^{-3} M;
- concentration en benzoparaquinone 10^{-4} M (la benzoparaquinone étant apportée en solution dans le dichloroéthane par agitation avec la solution acide de phénothiazine).

Le spectre de la *Figure 17* est entièrement superposable à celui obtenu par voie électrochimique. Il en est de même pour les trois dérivés de la phénothiazine utilisés en thérapeutique dont les spectres respectifs sont rassemblés sur la *FIGURE 18* (*).

(*) - L'enregistrement et l'analyse des spectres de R.P.E. ont été effectués par le Docteur LETERRIER, Assistant de recherches (Biophysique) du Service de Santé des Armées que nous remercions très vivement.

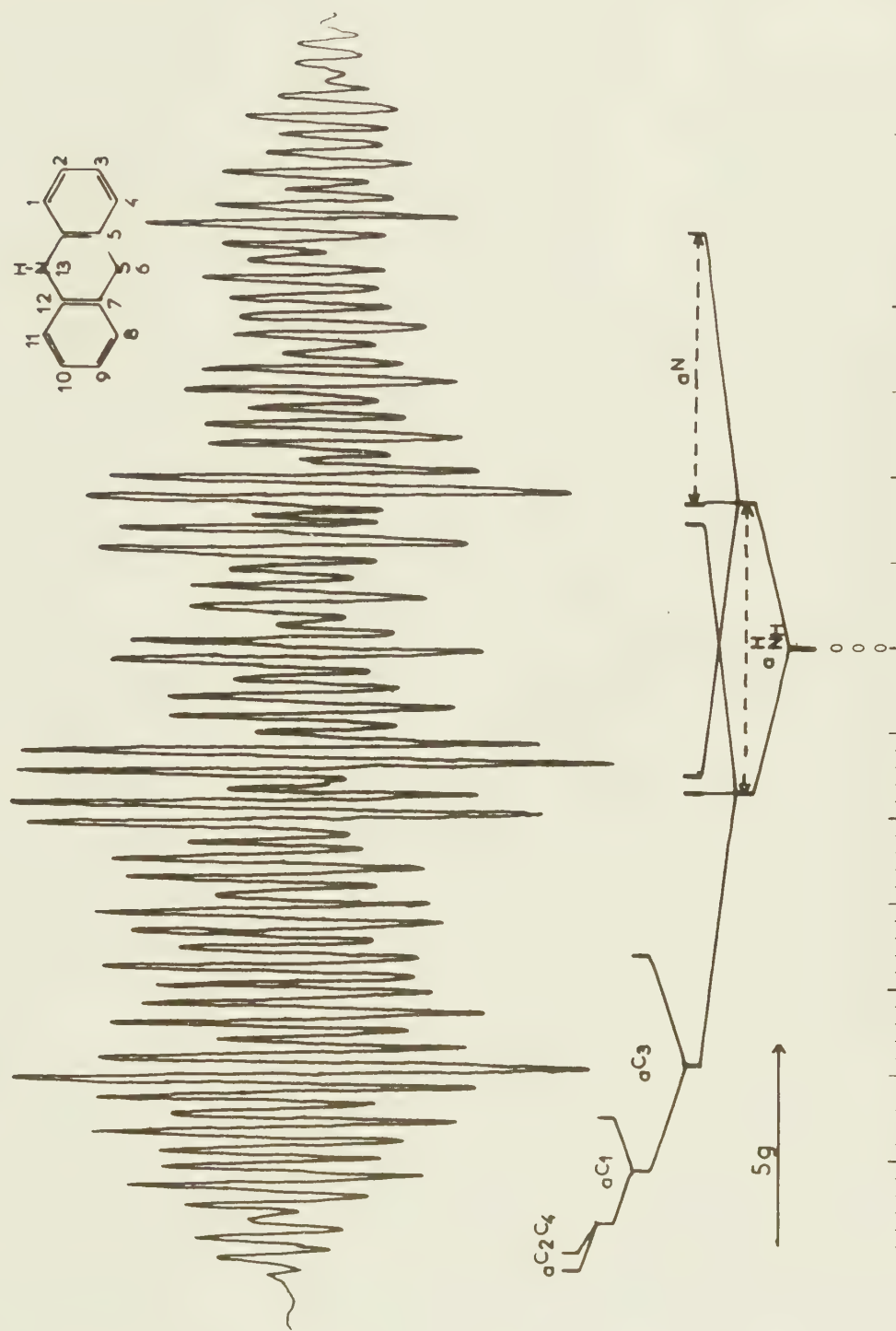


FIGURE 17 - SPECTRE DE RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE DU RADICAL CATION DE LA PHENOTHIAZINE [solution 10^{-3} M de PHENOTHIAZINE BASE dans HCl ($d=1.18$) à 75 % en volume; benzoparquinone 10^{-4} M]

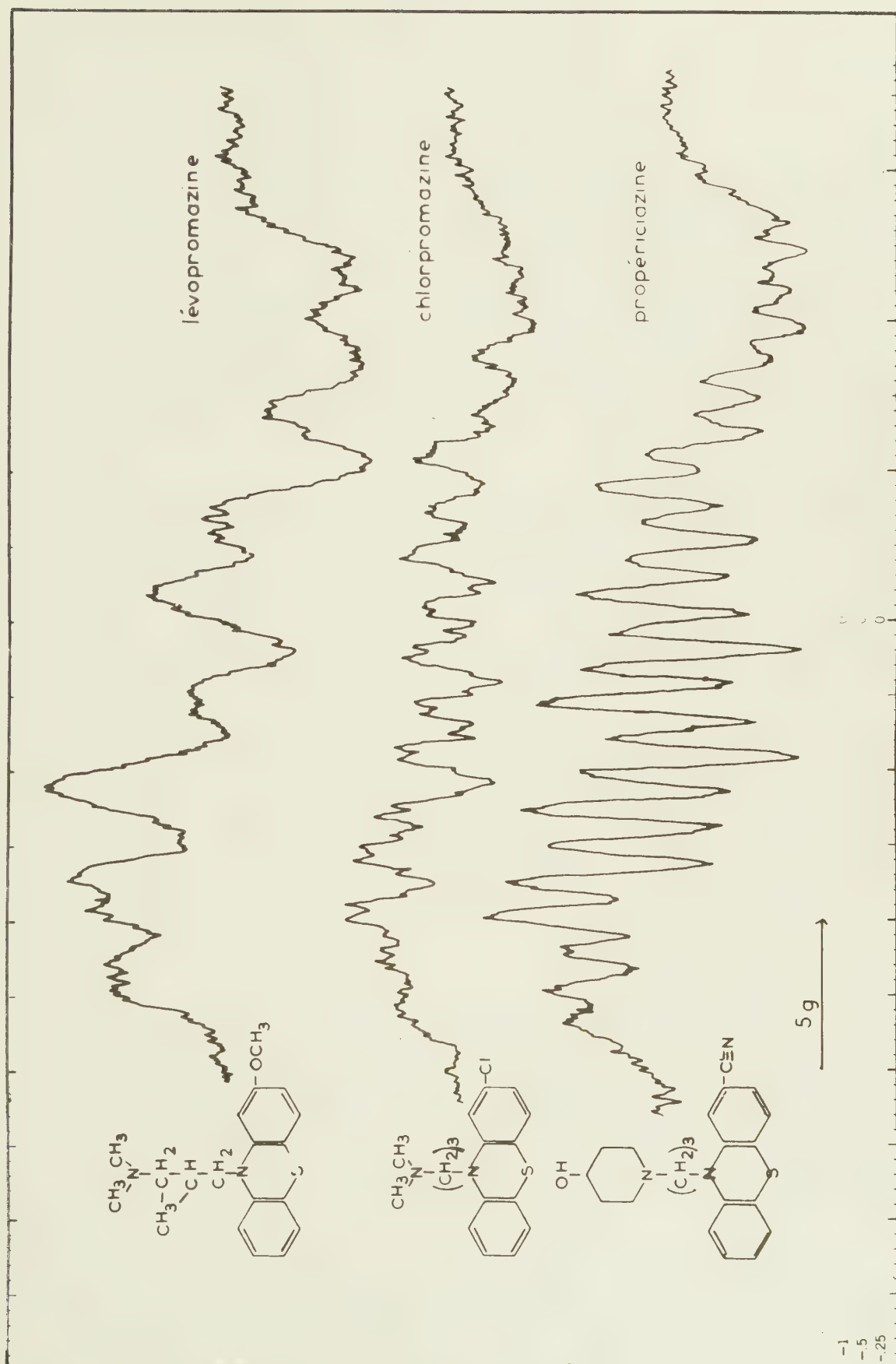


FIGURE 18 - SPECTRES DE RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE DES RADICAUX CATIONS DE TROIS DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE [solutions dans HCl, action de la benzoparaquinone].

L'importante délocalisation de l'électron célibataire sur l'ensemble de la molécule de phénothiazine fortement conjuguée, entraîne des interactions magnétiques de cet électron avec l'atome d'azote et avec tous les protons de la molécule.

Le spectre de R.P.E. qui en résulte est d'une grande complexité. LHOSTE et TONNARD (104) en ont donné une interprétation complète en utilisant notamment la technique de substitution isotopique (deutération de la molécule), et en comparant leurs résultats expérimentaux avec les données d'un calcul théorique de la répartition du spin électronique sur la phénothiazine.

La *Figure 17* montre le spectre de la phénothiazine base et indique les valeurs des couplages spin-noyau. On constate que l'électron célibataire est le plus fortement couplé avec le proton porté par l'azote 10 et avec le noyau de cet atome d'azote.

Lors de la substitution de ce proton par un méthyl (N-méthyl-phénothiazine), le couplage avec l'azote augmente, mais il reste important avec les trois protons du méthyl.

Pour les dérivés à action pharmacologique (*Figure 18*), la présence de la chaîne latérale a pour conséquence de diminuer la résolution des spectres, mais par comparaison avec la N-méthyl phénothiazine, on observe d'une part, que les principaux couplages restent identiques, d'autre part que le substituant du carbone 3 du noyau phénothiazinique entraîne de nouvelles interactions.

125 - Hypothèse relative à la formation des radicaux.

Le radical cation phénothiazinique résulte de l'abstraction d'un électron du doublet libre de l'azote 10 sous l'influence d'un accepteur (*Figure 19*).

Une telle réaction peut être envisagée par l'emploi d'un oxydant très fort.

Mais, dans la formation des radicaux phénothiaziniques sous l'action de la benzoparaquinone en milieu fortement acide, on peut écrire la réaction représentée sur la *Figure 20*.

Il ne s'agit que d'une hypothèse, le mécanisme de la réaction n'ayant pas encore été établi. Nous pouvons seulement écrire ce schéma représentant une réaction d'oxydo-réduction monoélectronique conduisant à la formation de radicaux cations.

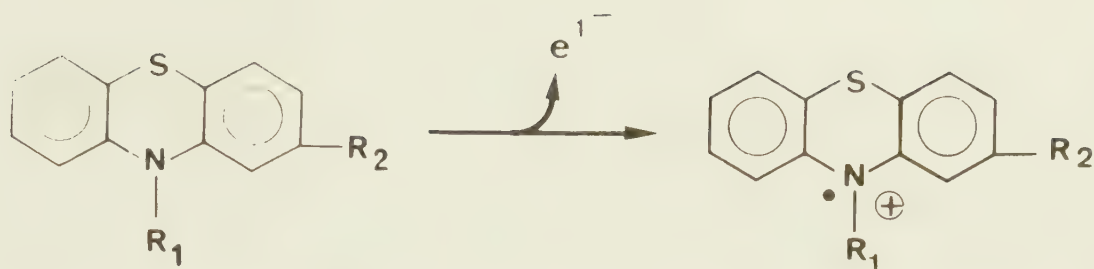


FIGURE 19 - FORMATION DU RADICAL CATION D'UN DERIVE DE LA *PHENOTHIAZINE* SOUS L'ACTION D'UN OXYDANT COMME LE CHLORE.

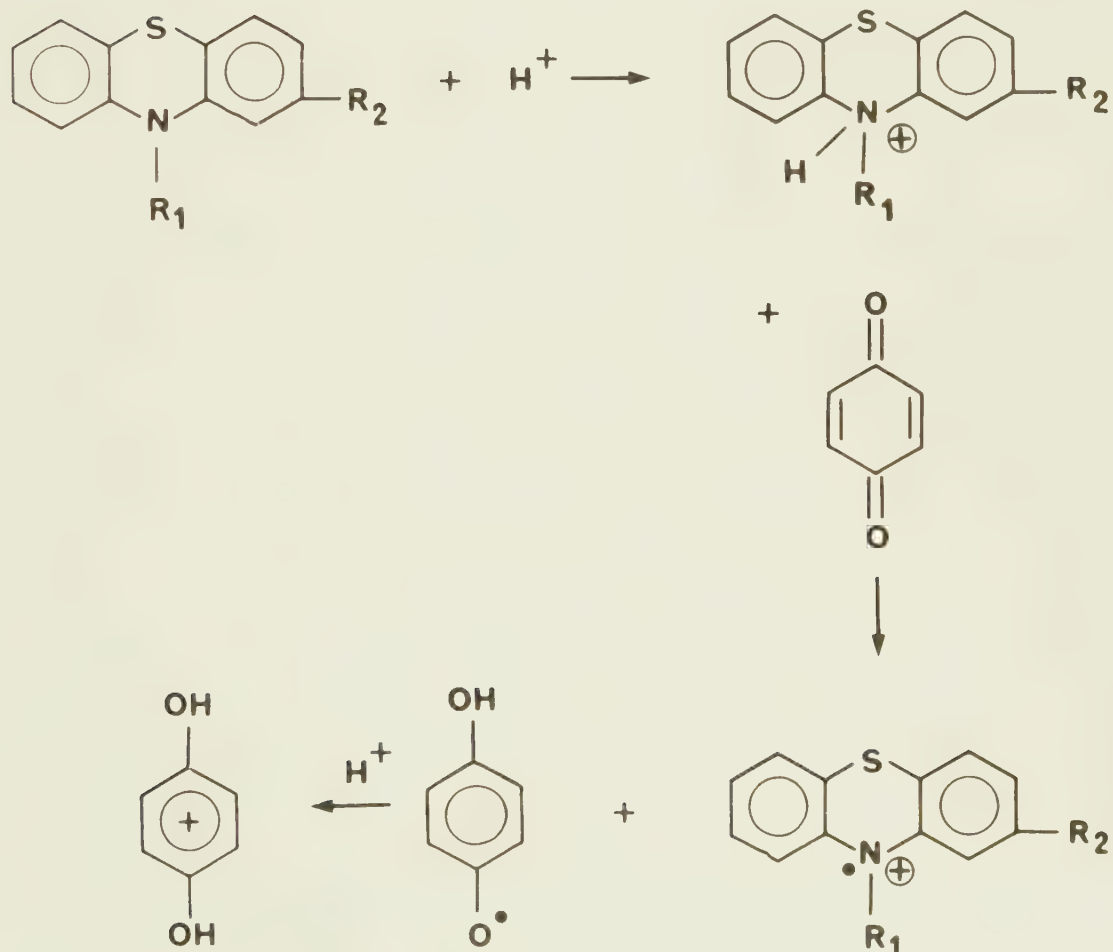


FIGURE 20 - FORMATION DU RADICAL CATION D'UN DERIVE DE LA *PHENOTHIAZINE* PAR ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE DANS UNE SOLUTION TRES ACIDE DE CE DERIVE.

· CHAPITRE II ·

ETUDE ET APPLICATIONS QUALITATIVES
DE LA REACTION "QUINONE - ACIDE PHOSPHORIQUE"

La nature radicalaire des espèces moléculaires qui supportent les colorations obtenues avec la majorité des réactifs déjà décrits pour la caractérisation — voire le dosage — des dérivés de la phénothiazine, n'a pas présidé le plus souvent à la recherche de ces réactifs.

Très rapidement, de nombreux auteurs ont tenté d'exploiter à des fins qualitatives ou quantitatives le caractère très oxydable de la phénothiazine et de ses dérivés à usage thérapeutique.

BERNTHSEN (7) avait observé dès 1883 cette curieuse propriété en remarquant que la phénothiazine base conduisait à une coloration rouge lorsqu'elle se trouvait en présence d'ions ferriques dans un milieu acide. L'oxydation par le brome a été à la base de plusieurs techniques de dosage de la phénothiazine parmi lesquelles celles de HORWITZ (81), de KNIASEFF (93), de CUPPLES (32), BAYFIELD et COLE (3) ont proposé récemment la co-oxydation de la phénothiazine base et de l'aniline par le brome tandis que GUNEW (73) a envisagé la détermination quantitative de la même molécule par action de l'eau oxygénée ou le chlorure ferrique.

L'apparition en thérapeutique de nombreux dérivés de la phénothiazine a conduit à la description d'une longue série de réactifs dont la très grande majorité utilisent les propriétés oxydo-réductrices particulières du noyau phénothiazinique. Le *Tableau IV* rassemble les différents réactifs ou réactions décrits:

- soit pour la caractérisation d'un dérivé phénothiazinique (en poudre ou en solution pure);
- soit pour le dosage des phénothiazines basé sur des mesures absorptionométriques dans le spectre visible;
- soit pour la recherche des dérivés de la phénothiazine dans les liquides biologiques en toxicologie hospitalière d'urgence;

$H_2 SO_4$	84 p. cent	DUBOST et PASCAL (42)
	70 p. cent	EIDUSON et WALLACE (45)
	62,5 p. cent	HUANG et RUSKIN (83)
	50 p. cent	DUBOST et PASCAL (41, 42)
	50 p. cent + éthanol ..	DUBOST et PASCAL (42)
$H_2 SO_4$ à diverses concentra- tions	+ perhydrol	BOLT, FORREST et SERRA (16)
	+ acide arsénique	HUANG et KURLAND (82)
	+ brome	BRIGNON (20)
	+ nitrate d'uranyle	DEVILLER (38)
	+ acide chromique	DUBOST et PASCAL (42)
	+ dichromate de potassium	Pharmacopée Française 8 ^e Ed.
	+ nitrate ferrique	LEACH et CRIMMIN (101)
	+ chlorure ferrique	KLEINSORGE et coll. (92)
		BOLT et FORREST (15) FORREST et coll. (51, 57, 60), FELS et coll. (47), RIEDER (136).
	+ iodure mercurique	GREBENNIK (70)
$H Cl$	+ vanadate d'ammonium ...	NEUHOFF et AUTERHOFF (118)
	+ chlorure ferrique	VESELL (150)
	+ nitrite de sodium	BERTI et CIMA (9) LAFARGUE (99)
	+ acide arsénique	WISER et coll. (152)
	+ chloramine T	NEUHOFF et AUTERHOFF (118)
	+ persulfate de sodium ..	DEVILLER (38)
	+ acide trichloracétique et nitrate d'uranyle	FORREST et coll. (58)
	+ acide trichloracétique et nitrate mercurique	FORREST et coll. (59)
	+ acide phénylstilbénique	PLIGIN (129)
$H_3 PO_4$	+ chlorure ferrique	CAVANAUGH et ERVIN (26)
	+ acide iodique	CALO et coll. (21, 22, 23, 24)
$H NO_3$	+ acide perchlorique et chlorure ferrique	FORREST et coll. (61)
	+ chlorure ferrique	ROBINSON (137)
	+ nitrite de sodium	NEVE (119)
	à diverses concentrations	FOSSOUL (62,63) GROVER et VELLAR (72) KIGER et KIGER (90) NEUHOFF et AUTERHOFF (118).

TABEAU IV

COMPOSITION DE DIVERS REACTIFS ACIDES ET OXYDANTS
DECRIIS POUR LA CARACTERISATION OU LE DOSAGE DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE.

- soit pour l'étude du métabolisme ou de l'élimination d'un dérivé particulier.

Ces réactifs, même lorsqu'ils ont été décrits pour la caractérisation ou la détermination d'un ensemble de métabolites, donnent toujours des réactions positives avec les dérivés de la phénothiazine non transformés; d'ailleurs, bien souvent, pour des raisons que nous donnerons plus loin, les courbes d'étalonnage — dans le cas de déterminations quantitatives pour des études de métabolisme — ont été réalisées par action du réactif sur le dérivé administré.

A la longue liste de réactifs spécifiques rassemblés dans le *Tableau IV*, on peut ajouter :

Les réactions (souvent "parasites") décrites à l'occasion de l'utilisation de divers réactifs acides ou oxydants pour la caractérisation ou le dosage de substances diverses : réactif sulfomolybdique de Froedhe, réactif sulfovanadique de Mandelin, réactif sulfoformolé de Marquis, réaction acide sulfurique et cristaux de bichromate de potassium pour la formation des stries d'Otto avec la strychnine, réaction hydrostrychninique de Dénigès, réactifs de diazotation, eau de brome, action de l'hypochlorite ou de l'hypobromite, action des persels en milieu acide (2, 36, 44, 62, 75, 78, 85, 96, 102, 127, 134).

- les réactions obtenues avec le chlorure de palladium (27, 126) ou le laurylsulfate de palladium (140), l'iodoplatinate de potassium (30, 113, 114, 115).
- quelques réactions particulières qui ont été préconisées pour la détermination quantitative de ces composés et que nous rappellerons plus loin;
- l'action de l'oxygène naissant provenant de la décomposition du perhydrol sous l'influence d'une catalase et qui provoque la formation de réactions colorées utilisées à des fins qualitatives par SOLSONA et MORA (143).

L'étude du *Tableau IV* permet de mettre en relief quelques éléments qui constituent le dénominateur commun à une grande majorité de

réactifs ou de réactions précédemment rappelés : milieu fortement acide, présence d'un oxydant. Sans doute, peut-on s'étonner de voir des colorations se développer par simple dissolution d'un dérivé phénothiazinique dans des acides de pK_A bas à grande concentration comme les acides chlorhydrique ou phosphorique ou l'acide sulfurique dilué au demi. Avec ce dernier acide, en particulier, la cinétique du développement de la coloration est d'autant plus rapide que la solution est agitée en présence d'air. D'autre part, si on laisse la coloration se développer dans la cuve de mesure d'un spectrophotomètre d'absorption, on constate qu'elle s'intensifie surtout dans la zone de liquide en contact avec l'air. L'agitation permet alors de développer la coloration dans l'ensemble de la cuve mais, au repos, l'intensification continue de se produire à la surface du liquide. Une telle observation ne peut être faite en utilisant la méthode de dosage des dérivés de la phénothiazine selon DUBOST et PASCAL (41); en effet, en appliquant la technique proposée, le mélange d'un volume de solution aqueuse phénothiazinique à un volume d'acide sulfurique pur ($d = 1,83$) — en réalisant une concentration de 50% en acide — provoque un échauffement considérable du milieu réactionnel, la température dépassant 100°C . Dans ces conditions, la réaction se développe très rapidement et dans tout le volume réactionnel.

Ainsi que nous l'avons exposé dans le chapitre précédent, la spectroscopie hertzienne permet, dans tous les cas, de montrer que l'apparition de ces colorations est contemporaine de la formation de radicaux cations. Il faut bien admettre que, dans des milieux très acides, seule la présence d'un accepteur d'électron est responsable de la formation des espèces moléculaires transitoires qui supportent les colorations observées.

Or, de nombreux auteurs ont constaté la fugacité, l'instabilité, et la non reproductibilité de certaines réactions colorées (parfois préconisées pour le dosage des dérivés de la phénothiazine). C'est ce qui nous a conduit à tenter d'utiliser un accepteur d'électron organique de nature quinonique pour engendrer par voie chimique les espèces radicalaires colorées à partir des dérivés de la phénothiazine, et à envisager des applications analytiques. L'obtention de telles réactions placerait les dérivés quinoniques — et en particulier la benzoparaquinone — en tête de tous les accepteurs d'utilisation possible. En effet, ils

permettraient de former — selon les conditions de la réaction — des complexes par transfert de charge et des radicaux cations en intervenant en deçà ou au delà du point origine du processus d'oxydo-réduction irréversible toujours observé avec les réactifs précédents (ou avec des oxydants puissants comme le chlore), les actions ne se différenciant que par la rapidité dans la succession des états colorés conduisant à un dérivé final incolore.

21 - ETUDE DES REACTIONS COLOREES DEVELOPPEES PAR ACTION DE LA BENZO-PARAQUINONE SUR DES SOLUTIONS ACIDES DE PHENOTHIAZINE ET DE SES DERIVES.

211 - ETUDE DES SOLUTIONS ACIDES DE PHENOTHIAZINE ET DE SES DERIVES.

En dehors de l'acide nitrique qui possède par lui-même — à froid et à forte concentration — un pouvoir oxydant important, on constate que la simple dissolution de phénothiazine base (ou des dérivés de la phénothiazine) dans les acides sulfurique, chlorhydrique et phosphorique (de densité respective: 1,83 1,18 1,71) conduit à des colorations. Avec des acides organiques tels que les acides acétique ou trichloracétique un tel phénomène n'est pas observé. Ces réactions qui sont développées dans des milieux très acides sont attribuées à la présence de l'oxygène dissous dans les solutions. En effet, puisqu'elles relèvent d'un mécanisme d'oxydo-réduction conduisant à la formation de radicaux cations détectés par leurs propriétés paramagnétiques, elles sont obligatoirement dépendantes de la présence dans le milieu réactionnel d'un accepteur d'électron. En dehors de l'oxygène dissous, il faut tenir compte de la participation d'impuretés présentes dans les acides (ions ferriques, traces de chlore libre dans l'acide chlorhydrique fumant, par exemple).

Nous avons mesuré l'intensité de ces colorations et la cinétique de leur développement sur un dérivé de la phénothiazine: la chlorpromazine. Ce choix qui sera maintenu dans l'étude des réactions colorées développées sous l'influence des dérivés quinoniques en milieu acide,

est dicté par le fait que ce dérivé a servi à la grande majorité des auteurs ayant mis au point des réactions colorées pour des fins analytiques. D'autre part ce composé ayant reçu de nombreuses applications thérapeutiques, il a été utilisé pour tester la plupart des méthodes préconisées pour des études analytiques qualitatives ou quantitatives. C'est pourquoi la chlorpromazine se prête le mieux à la comparaison des résultats obtenus dans les différentes études faites antérieurement et celle que nous rapportons ici.

2111 - Réactifs et appareillages utilisés.

- Acide sulfurique RP d = 1,83
- Acide phosphorique RP d = 1,71
- Acide chlorhydrique RP d = 1,18
- Chlorhydrate de Chlorpromazine RP.
- Spectrophotomètre JOBIN YVON type MAROC;
- Spectrophotomètre LERES SPILA type DMS
avec enregistreur Minigraph CR 020.

2112 - Résultats obtenus.

Les colorations développées à une température de +22° C. ont été étudiées pour des solutions $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine.

La *Figure 21* représente la cinétique de ces réactions durant 60 minutes. Ces résultats montrent que les colorations développées — qui présentent toutes un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 527 nm — atteignent après une heure des densités optiques différentes et selon des cinétiques variables.

Seul l'acide sulfurique pur conduit à une coloration intense, qui à la température du laboratoire, n'atteint pas son maximum dans la première heure de réaction.

Aucune différence n'a été notée dans le développement des colorations lorsqu'il s'effectue à la lumière du jour ou à l'obscurité et ce pour la concentration en chlorpromazine, la nature et la concentration des acides dans les solutions précédemment définies.

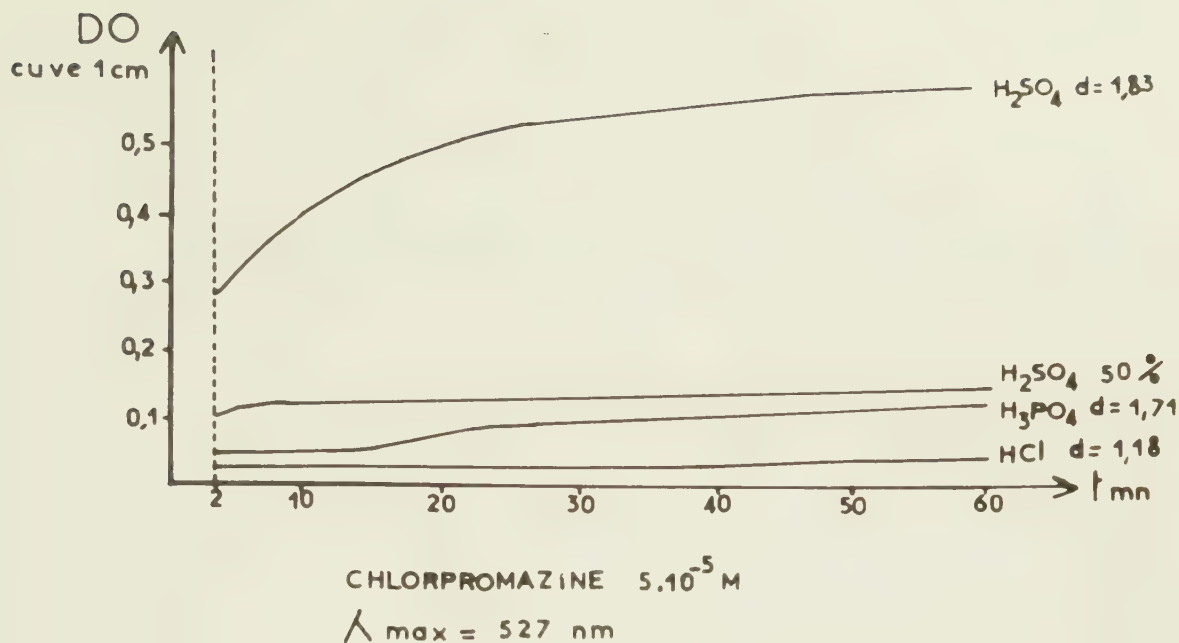


FIGURE 21 - EVOLUTION DE LA DENSITE OPTIQUE A 527 nm D'UNE SOLUTION $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE DANS DIVERS ACIDES.

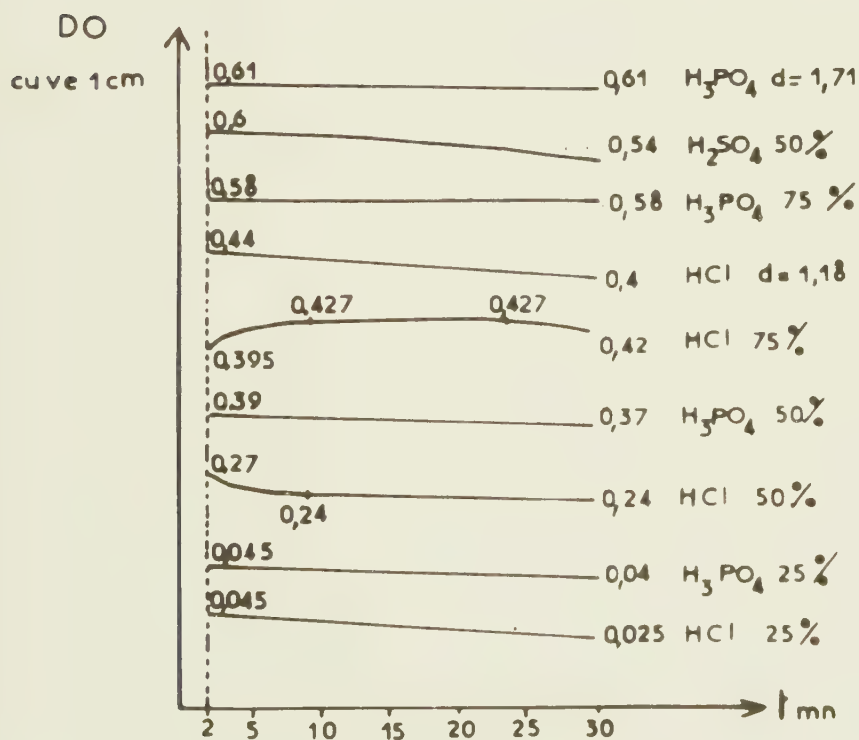


FIGURE 22 - EVOLUTION DE LA DENSITE OPTIQUE A 527 nm D'UNE SOLUTION $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE DANS DIVERS ACIDES APRES ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE.

212 ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE SUR LES SOLUTIONS ACIDES
DE CHLORPROMAZINE

2121 - Réactifs utilisés.

- Acide sulfurique RP d = 1,83
- Solution aqueuse d'acide sulfurique RP d = 1,83
à 50 % en volume
- Acide phosphorique RP d = 1,71
- Solutions aqueuses d'acide phosphorique :
 - Solution A : (Acide phosphorique 3 Volumes
(Eau distillée 1 Volume
 - Solution B : (Acide phosphorique 2 Volumes
(Eau distillée 2 Volumes
 - Solution C : (Acide phosphorique 1 Volume
(Eau distillée 3 Volumes
- Acide chlorhydrique RP d = 1,18
- Solutions aqueuses d'acide chlorhydrique dans les
memes concentrations que pour l'acide phosphorique
- Benzoparaquinone Merk
- Solution de benzoparaquinone 10^{-3} M
dans le dichloroéthane.
Ce solvant a été choisi en raison de la stabilité
de la benzoparaquinone lorsqu'elle s'y trouve en
solution.

2122 - Action de la benzoparaquinone.

L'addition de la solution de benzoparaquinone aux solutions aqueuses acides de phénothiazines précédemment étudiées, développe d'intenses colorations ainsi que le montre la *Figure 22*. Cette figure fait apparaître également l'évolution de ces colorations durant les trente premières minutes de la réaction. Dans tous les cas, (sauf dans HCl à 75 %), ces colorations atteignent leur maximum d'intensité dans les deux à trois premières minutes, temps nécessaire à la centrifugation pour la séparation de la phase organique surnageante et à son élimination.

Remarquons qu'il n'a pas été possible de mesurer l'action de ce dérivé quinonique sur une solution $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine dans l'acide sulfurique pur, l'agitation de ces deux solutions conduisant à un noircissement du dérivé quinonique.

De l'ensemble des résultats de la *Figure 22*, il apparaît :

- a) que les colorations développées dans les solutions phosphoriques sont les plus stables;
- b) que les coefficients d'extinction moléculaire calculés pour les solutions $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine dans l'acide sulfurique à 50 %, dans l'acide phosphorique pur et dans l'acide phosphorique dilué avec un tiers de son volume d'eau sont très voisins :

	coefficient d'extinction moléculaire (e = 1 cm)
H ₂ SO ₄ 50 p. cent	12.000
H ₃ PO ₄ (d = 1,71)	12.000
H ₃ PO ₄ (dilué)	11.600

C'est donc l'acide phosphorique qui a été choisi pour la suite de ce travail.

2123 - Influence de la concentration en benzoparaquinone sur le développement et l'intensité de la coloration.

Cette étude a été pratiquée avec une solution $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine dans l'acide phosphorique dilué avec un tiers de son volume d'eau.

La *Figure 23* montre que la coloration atteint son maximum d'intensité pour une concentration finale "théorique" (c'est-à-dire en considérant le volume de la phase acide colorée) égale ou supérieure à 10^{-4} M. L'intensité maximale de la coloration reste stable pour des concentrations cinq fois plus fortes.

L'étude cinétique, *Tableau V*, montre également que les maxima

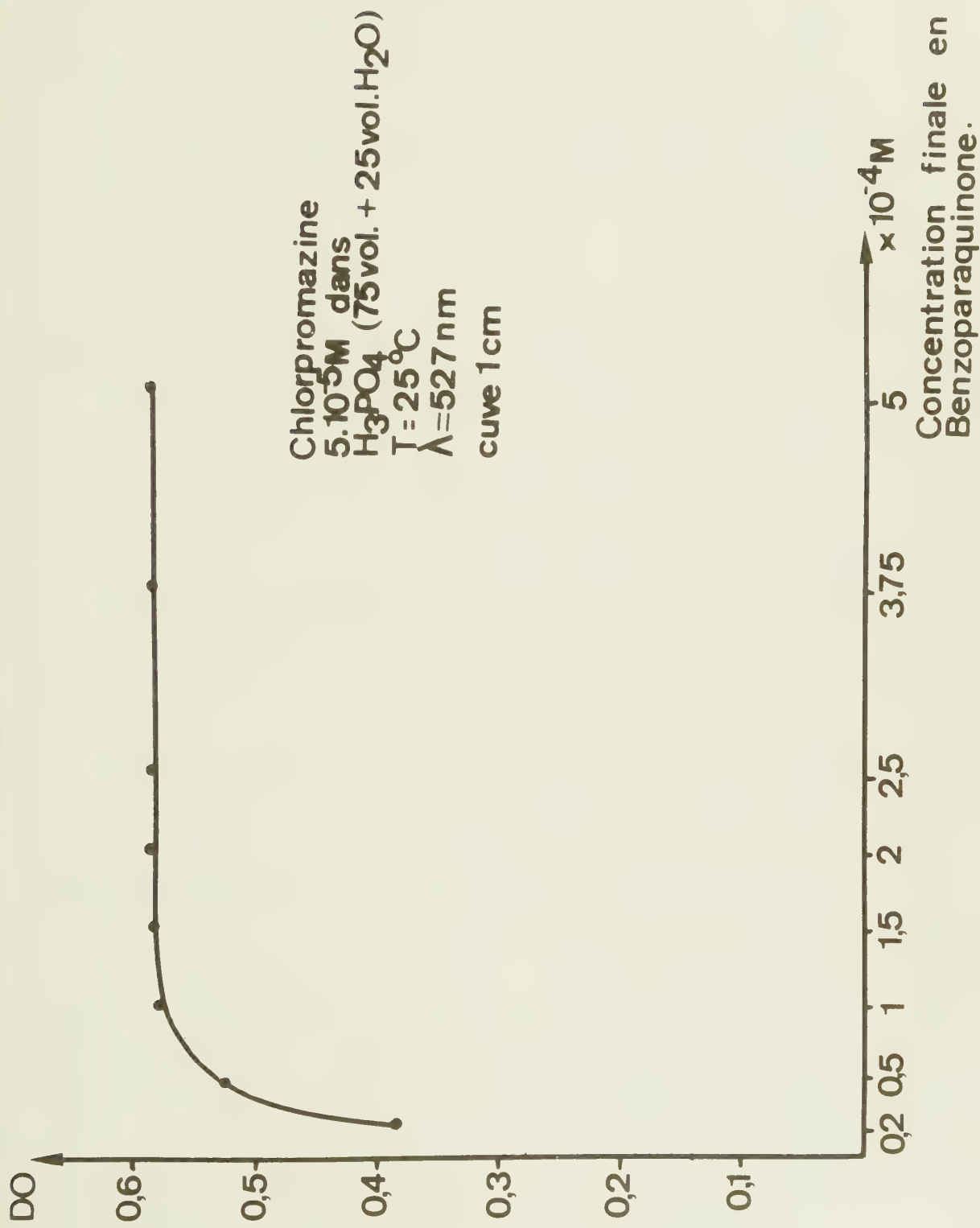


FIGURE 23 - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN BENZOPARAQUINONE SUR LA DENSITE OPTIQUE D'UNE SOLUTION PHOSPHORIQUE $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ DE CHLORPROMAZINE.

Temps en minutes	CONCENTRATION FINALE "THEORIQUE" EN BENZOPARAQUINONE									
	$2 \cdot 10^{-5}$ M	$5 \cdot 10^{-5}$ M	10^{-4} M	$1,5 \cdot 10^{-4}$ M	$2 \cdot 10^{-4}$ M	$2,5 \cdot 10^{-4}$ M	$3,75 \cdot 10^{-4}$ M	$5 \cdot 10^{-4}$ M		
2	0,390	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,584	0,584		
4	0,390	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,584	0,582		
6	0,390	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,583	0,582		
8	0,390	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,583	0,582		
10	0,388	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,583	0,582		
15	0,388	0,526	0,582	0,585	0,585	0,585	0,583	0,582		
30	0,388	0,525	0,580	0,582	0,582	0,582	0,580	0,580		

TABLEAU V

VALEURS DES DENSITES OPTIQUES OBTENUES AVEC UNE SOLUTION $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE
DANS L'ACIDE PHOSPHORIQUE "DILUE" EN FONCTION DU TEMPS ET DE LA CONCENTRATION EN
BENZOPARAQUINONE.
 $\lambda_{\text{max.}}$: 527 nm. Cuve : 1 cm. T° C. = 23° C.

d'intensité des colorations pour chaque concentration de benzoparaquinone sont atteints dans les trois premières minutes. La concentration finale "théorique" de benzoparaquinone qui a été choisie pour les études suivantes est de $2 \cdot 10^{-4}$ M ce qui correspond à l'addition de 1 ml de solution de benzoparaquinone 10^{-3} M pour un volume de solution aqueuse acide de 5 ml.

2124 - Etude des spectres des colorations développées par la phénothiazine base et ses dérivés utilisés en thérapeutique.

A l'exception de quatre dérivés que nous citerons à la fin de ce paragraphe, tous les spectres ont été enregistrés à partir de la coloration développée dans la phase aqueuse acide après agitation d'un volume de solution ($5 \cdot 10^{-5}$ M dans le dichloroéthane) de chacun de ces dérivés contre le même volume de la solution diluée d'acide phosphorique et après action de la benzoparaquinone.

a) Phénothiazine base. L'action de la benzoparaquinone développe une coloration rose-orangée dont le spectre représenté sur la *Figure 24*, montre :

- un maximum à 515 nm;
- un maximum secondaire à 436 nm;
- deux paliers respectivement à 478 et 496 nm.

b) Dérivés de la phénothiazine. Nous avons successivement étudié :

- 39 dérivés phénothiaziniques à usage thérapeutique, utilisés en France ou à l'étranger;
- 13 dérivés phénothiaziniques non commercialisés;
- 4 dérivés de la phénothiazine dont l'azote du cycle hétéroatomique n'est pas substitué par une chaîne latérale, et qui sont des intermédiaires de synthèse.

Pour tous ces dérivés, nous avons enregistré le spectre de la coloration développée sous l'influence de la benzoparaquinone. Dans tous les cas, les spectres ont été enregistrés entre 450 et 700 nm; ils ne montrent qu'un seul maximum d'absorption.

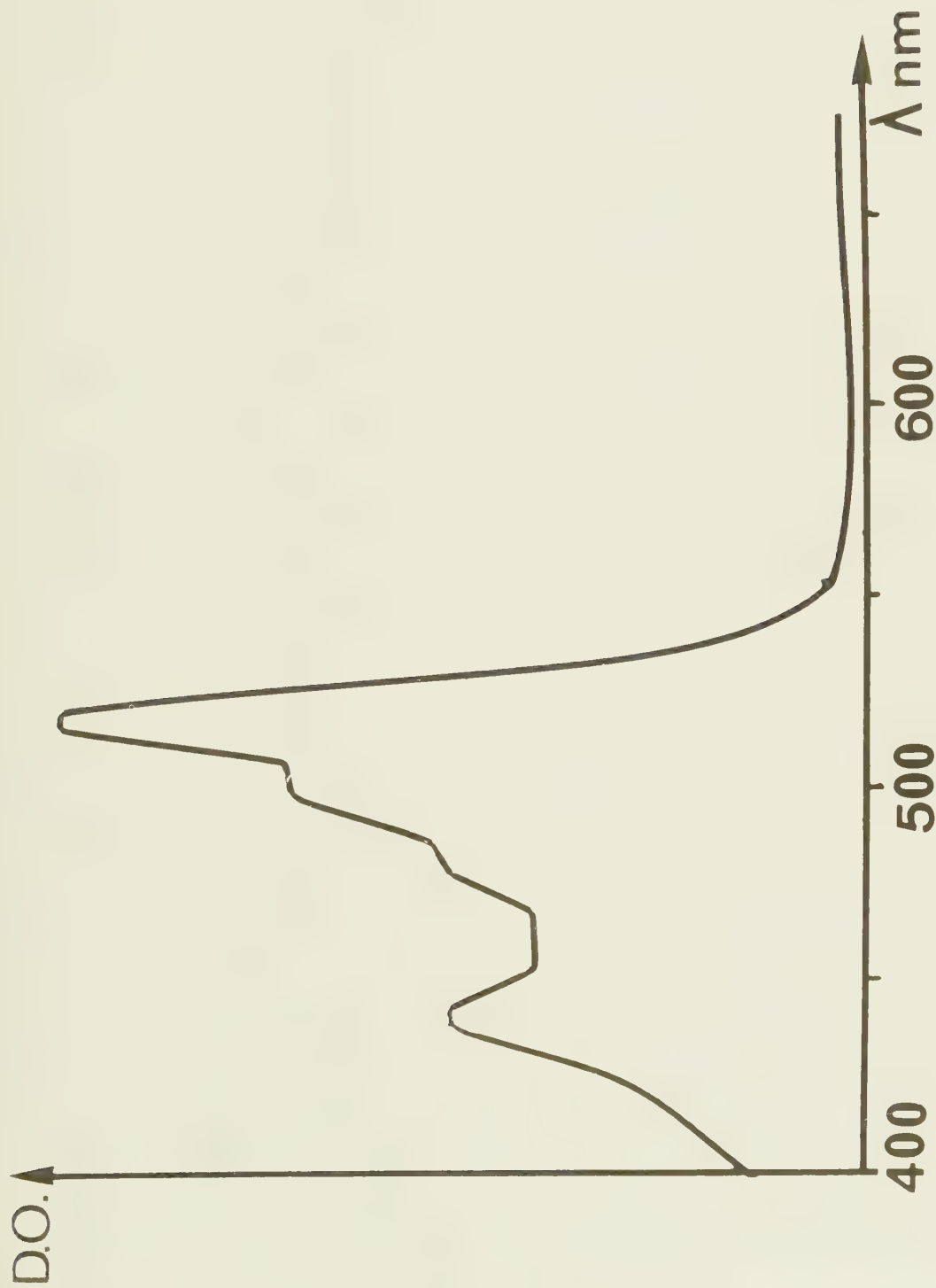


FIGURE 24 - SPECTRE D'ABSORPTION DU RADICAL CATION DE LA PHENOTHIAZINE [H_3PO_4 ($d=1,71$): 75 %, benzoparaquinone] : $\lambda_{\text{max}} = 515$ nm, 436 nm, paliers à 478 et 496 nm.

Les Tableaux VI rassemblent :

les dénominations communes de chacun de ces dérivés avec éventuellement, leur nom de spécialité et les laboratoires qui les commercialisent;

pour chaque dérivé, la nature du substituant du cycle aromatique (carbone 3) et la valeur de la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration développée dans les conditions précédentes.

Ces tableaux font apparaître que la mesure de la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration de chacun de ces composés permet de ranger les dérivés phénothiaziniques étudiés dans 6 catégories qui se caractérisent par la nature du substituant du carbone 3 du cycle aromatique :

1° Catégorie :	• CF ₃	λ max. 497 à 500 nm
2° Catégorie :	• CN, • SO ₂ N (CH ₃) ₂	λ max. 503 à 510 nm
3° Catégorie :	• H, • CO-CH ₃ , • CO-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ , • SO-CH ₃ , • CH ₂ -COOH	λ max. 510 à 518 nm
4° Catégorie :	• Cl	λ max. 526 à 528 nm
5° Catégorie :	• OCH ₃	λ max. 563 à 568 nm
6° Catégorie :	• S - R'	λ max. 636 nm

La nature de la chaîne latérale R₁ portée par l'azote a peu d'influence sur la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration ainsi que le montrent les résultats suivants :

1°) Substituant du carbone 3 : • O-CH₃

- Méthoxyphénothiazine [R₁ = H] λ max. = 553 nm
- Lévomépromazine λ max. = 567 nm
[R₁ = CH₂-CH(CH₃)-CH₂- N(CH₃)₂]

DENOMINATION COMMUNE	N°	NOM DEPOSE	LABORATOIRE DE COMMER- CIALISATION F : en France	NATURE DU SUBSTITUANT sur C ₃	λ max. en nm
ACEPROMAZINE	1522 CB	PLEGICIL	CLIN--COMAR	• CO-CH ₃	511
ACEPROMETAZINE	1664 CB	non commercialisé	non commercialisé	• CO-CH ₃	516
Acide METIAZINIQUE	16091 RP	SORIPAL	SPECIA	• CH ₂ -COOH	518
ALIMEMAZINE	6549 RP	THERALENE	THERAPLIX	• H	510
AMINOPROMAZINE	3826 RP	LISPAMOL	SPECIA	• H	520
BUTAPERAZINE	/	RANDOLECTYL	BAYER (Allemagne) /	• CO-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	517
CHLORACIZINE	11504 RP	non commercialisé	non commercialisé	• Cl	/
CHLORPROETHAZINE	4909 RP	NEURIPLEGE	GENEVRIER	• Cl	526
CHLORPROMAZINE	4560 RP	LARGACTIL	SPECIA	• Cl	527
CYAMEPROMAZINE	7204 RP	non commercialisé	non commercialisé	• CN	508
DIETHAZINE	2987 RP	DIPARCOL	SPECIA	• H	513
DIMETHOXANATE	/	COTRANE	MIDY	• H	
DIMETOTIAZINE	8599 RP	MIGRISTENE	SPECIA	• SO ₂ N(CH ₃) ₂	516
DIXYRAZINE	UCB 3412	ESUCOS	U.C.B. (Belgique) /	• H	510
ETYMEMAZINE	6484 RP	NUITAL-SERGETYL	VAILLANT DEFRESNE	• Cl	527
FENETHAZINE	3015 RP	RUTERGAN	DAUSSE	• H	515
FLUPHENAZINE	/	MODITEN-SEVINOL	SQUIBB-UNILABO	• CF ₃	500
LEVOMEPROMAZINE	7044 RP	NOZINAN	SPECIA	• OCH ₃	567
MEPAZINE	W 4224	PACATAL	WARNER CHILCOTT (USA) /	• H	512
MESORIDAZINE	NC 123	LIDANIL	SALVOXYL	Q • S-CH ₃	519
METHOPROMAZINE	4632 RP	MOPAZINE (*)	SPECIA	• OCH ₃	563
METHYLILAZINE	/	DISYNCRAN	ALLARD	• H	513

(*) n'est plus commercialisé.

TABLEAU VI

DENOMINATION COMMUNE	N°	NOM DEPOSE	LABORATOIRE DE COMMERCE F : en France	NATURE DU SUBSTITUANT sur C ₃	λ max. en nm
OXOMEMAZINE	6847 RP	DOXERGAN	SPECIA	• H	512
PARATHIAZINE	/	MEDIAMER	MEDIAL RIKER	• H	514
PERAZINE	/	TAXILAN	PROMONTA (Allemagne)	• H	513
PERIMETAZINE	9159 RP 1317 AN	LEPTRYL	BELLON	• OCH ₃	568
PERPHENAZINE	/	TRILIFAN	CETRANE	• Cl	527
PIPAMAZINE	/	NAUSIDOL	GREMY LONGUET	• Cl	527
PROCHLORPERAZINE	6140 RP	TEMENTIL (ex: STEMETIL)	SPECIA	• Cl	528
PROFENAMINE	3356 RP	PARSIDOL	SPECIA	• H	515
PROMAZINE	3276 RP	SPARINE	WYETH (U.S.A.)	• H	512
PROMETHAZINE	3277 RP	PHENERGAN	SPECIA	• H	513
PROPERICIAZINE	8909 RP	NEULEPTIL	SPECIA	• CN	519
PROPIOMAZINE	/	DOREVANE	WYETH BYLA	• O-CO-CH ₂ -CH ₃	517
PROPYROMAZINE	/	DIASPASYL	DIAMANT	• H	/
SULFORIDAZINE	TPN 12	IMAGOTAN	SANDOZ	• SO ₂ -CH ₃	504
THIAZINAMUM	3554 RP	MULTERGAN	SPECIA	• H	516
THIETHYLPERAZINE	/	TORECAN	SANDOZ	• S C ₂ H ₅	636
THIOPROPAZATE	/	DARTAL	SEARLE (USA)	• Cl	528
THIOPROPERAZINE	7843 RP	MAJEPTIL	SPECIA	• SO ₂ N(CH ₃) ₂	509
THIORIDAZINE	/	MELLERIL	SANDOZ	• S-CH ₃	636
TRIFLUOPERAZINE	7623 RP	TERFLUZINE	THERAPLIX	• CF ₃	497
TRIFLUOPROMAZINE	/	VESPRIN	SQUIBB (USA)	• CF ₃	498

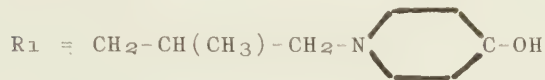
TABLEAU VI (suite)

	C ₃	λ max. en nm
PHENOTHIAZINE (λ max. SECONDAIRES et PALIER : 436 (478) 496	• H	515
DIMETHYLSULFAMOYL - 3 PHENOTHIAZINE	• SO ₂ N(CH ₃) ₂	513
CYANO - 3 PHENOTHIAZINE	• CN	514
CHLORO - 3 PHENOTHIAZINE	• Cl	526
METHOXY - 3 PHENOTHIAZINE	• OCH ₃	553
17461 RP	• H	513
6785 RP	• H	514
6661 RP	• H	513
5185 RP	• Cl	528
5198 RP	• Cl	528
6554 RP	• Cl	528
8080 RP	• Cl	527
6471 RP	• Cl	527
6530 RP	• Cl	533

TABLEAU VI (suite)

- Méthopromazine $\lambda_{\text{max.}} = 563 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2]$

Périméthazine $\lambda_{\text{max.}} = 568 \text{ nm}$



2°) Substituant du carbone 3 : • Cl

Chlorophénothiazine $R_1 = \text{H}$ $\lambda_{\text{max.}} = 526 \text{ nm}$

Chlorpromazine $\lambda_{\text{max.}} = 527 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2]$

- Chlorproéthazine $\lambda_{\text{max.}} = 526 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(C}_2\text{H}_5)_2]$

- Pipamazine $\lambda_{\text{max.}} = 527 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \diagdown \quad \diagup \end{array} \text{C-CO-NH}_2]$

Prochlorpérazine $\lambda_{\text{max.}} = 528 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \diagdown \quad \diagup \end{array} \text{N-CH}_3]$

Perphénazine $\lambda_{\text{max.}} = 527 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \diagdown \quad \diagup \end{array} \text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}]$

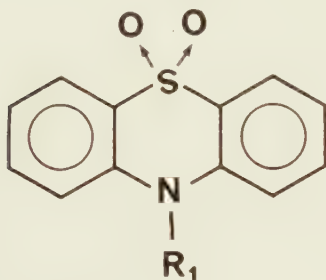
- Thiopropazate $\lambda_{\text{max.}} = 528 \text{ nm}$
 $[R_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \diagdown \quad \diagup \end{array} \text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCO-CH}_3]$

Les mêmes observations peuvent être faites pour les autres séries et, en particulier, pour les nombreux dérivés phénothiaziniques dont le carbone 3 ne présente pas de substitution.

Les propriétés en spectroscopie d'absorption des dérivés phénothiaziniques sont donc en corrélation étroite avec la nature du substituant fixé sur le carbone 3 du noyau, résultat qui confirme des travaux antérieurs quant aux propriétés spectroscopiques de ces dérivés. Par contre, aucune corrélation n'a pu être mise en évidence avec la structure chimique de la chaîne latérale fixée sur l'azote alors qu'on sait qu'une légère modification de cette chaîne peut entraîner d'importantes modifications dans l'activité pharmacologique de ces composés.

Comme nous l'avons signalé ci-dessus, quatre dérivés ne conduisent pas à des colorations dans les conditions décrites précédemment.

- a) L'un, l'oxomémazine est une sulfone; ce dérivé conduit en fait à une coloration très faible qu'on peut observer à une concentration de 10^{-3} M. Le coefficient d'extinction moléculaire est voisin de 130.



- b) Les trois autres dérivés, la chloracizine, le diméthoxanate et la propyromazine ne conduisent à aucune coloration même pour une concentration 10^{-3} M. Le premier n'est pas commercialisé; les deux autres possèdent respectivement des propriétés antitussives et spasmolytiques. Il faut noter que seuls ces trois dérivés possèdent une chaîne latérale dont le carbone en α de l'azote N₁₀ porte un atome d'oxygène ($\text{N} - \overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}} -$).

C'est la seule différence de structure avec l'ensemble des autres dérivés qui puisse être retenue comme pouvant être à l'origine de ce comportement exceptionnel.

22 - ACTION DES DIFFERENTS DERIVES QUINONIQUES SUR LES SOLUTIONS

5 . 10⁻⁵ M DE CHLORPROMAZINE DANS L'ACIDE PHOSPHORIQUE.

Dérivés quinoniques utilisés :

- Benzoparaquinone PM 108,10
- Toluquinone (méthyl-parabenzoquinone) PM 122,12
- 2,6 diméthyl benzoquinone PM 136,15
- Duroquinone: (2, 3, 5, 6) tétraméthyl - 1,4 benzoquinone) PM 164,21
- Quinhydrone PM 218,21
- Tétrachloro 2, 3, 5, 6 benzoquinone 1,4 PM 245,88
Chloranil
- Bromanil (2,3,5,6 tétrabromo 1,4 benzoquinone) PM 423,7
- (2,3,5,6 tétrahydroxy 1,4 benzoquinone) PM 172,10
- 1,4 naphthoquinone PM 158,16
- Ménadione: (2-méthyl 1,4 naphthoquinone) PM 172,2
- Anthraquinone PM 208,22
- 1,4,5,8 tétrachloroanthraquinone PM 346,01
- Tétrachloro-orthobenzoquinone PM 245,89

Chaque dérivé quinonique a été mis en solution dans le dichloro-éthane aux concentrations 10⁻³ M, 5 . 10⁻³ M et 10⁻² M. La tétrachloro-anthraquinone, très peu soluble, a été utilisée en solution saturée.

Pour chaque dérivé quinonique, 1 ml de chacune de ces solutions a été ajouté à 5 ml d'une solution de chlorpromazine 5 . 10⁻⁵ M dans le dichloroéthane et le mélange a été additionné de 5 ml de solution d'acide phosphorique dilué (3 volumes d'acide phosphorique d = 1,71, additionné d'un volume d'eau distillée). Après agitation vigoureuse et centrifugation, la densité optique de la phase aqueuse acide a été mesurée. Les résultats sont rassemblés dans le *Tableau VII*. Les valeurs inscrites sont celles des densités optiques à la dixième minute de la réaction.

Le but de cette étude était de mettre en évidence une sensibilité plus grande de la réaction par l'utilisation de ces dérivés quinoniques.

RESULTATS OBTENUS: densité optique pour une concentration $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine dans H_3PO_4 dilué.

	CONCENTRATIONS "THEORIQUES" FINALES EN DERIVE QUINONIQUE		
	$2 \cdot 10^{-4}$ M	10^{-3} M	$2 \cdot 10^{-3}$ M
Benzoquinone	0,590	0,590	0,600
Toluquinone	0,540	0,560	0,590
Diméthyl benzoquinone	0,040	0,040	0,050
Duroquinone	0,295	0,412	0,452
Chloranil	0,150	0,260	0,460
Bromanil	0	0,033	0,268
Tétrahydroxy benzoquinone	<i>pratiquement insoluble dans le dichloro- éthane.</i>		
Naphtoquinone	0,088	0,120	0,142
Ménadione	0,050	0,050	0,045
Anthraquinone	0,035	0,035	0,040
Tétrachloroanthraquinone	0	0	0
Tétrachloro-orthobenzoquinone ..	0,610	0,580	0,522
Quinhydrone	0,570	0,590	0,585

TABLEAU VII

VALEURS DES DENSITES OPTIQUES A 527 nm DES SOLUTIONS $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE DANS H_3PO_4 [d-1,71 : 75 p. cent] APRES ACTION DE PLUSIEURS DERIVES QUINONIQUES A DIVERSES CONCENTRATIONS.

Dans quelques cas, (naphtoquinone et bromanil en particulier), la cinétique du développement de la réaction est lente.

Le *Tableau VII* montre que seule la tétrachloro-orthobenzoquinone a semblé présenter un avantage quant à la concentration plus faible nécessaire pour développer très rapidement la coloration avec une sensibilité comparable à celle déjà observée avec la benzoparaquinone. En effet le maximum d'intensité de la coloration est déjà obtenu pour une concentration finale "théorique" $5 \cdot 10^{-5}$ M. Nous avons néanmoins conservé la benzoparaquinone pour développer la coloration dans les études suivantes.

23 APPLICATION DE LA REACTION A LA BENZOPARAQUINONE POUR LA MISE EN EVIDENCE DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE SUR UN CHROMATOGRAMME.

Les premières études de séparation des dérivés de la phénothiazine par chromatographie en couche mince ont été effectués par SUNSHINE (145), NOIRFALISE (120, 121, 122) et COCHIN (30), tandis que NADEAU (113), EISDORFER (46), DEMORAS (37) et leurs collaborateurs avaient antérieurement utilisé la chromatographie sur papier pour séparer quelques phénothiazines médicamenteuses.

En chromatographie sur couche mince, l'adsorbant le plus fréquemment utilisé est le gel de silice préconisé en particulier par KIGER et KIGER (90) pour la diagnose des dérivés utilisés en thérapeutique.

La révélation des phénothiazines après séparation chromatographique peut s'effectuer par diverses méthodes :

- a) L'examen en lumière ultraviolette à 254 nm (par utilisation de chromatoplaques avec indicateur de fluorescence), l'exposition aux vapeurs d'iode, la pulvérisation du réactif iodoplatitique ou iodobismuthique conduisent à la mise en évidence des spots phénothiaziniques mais sans aucune spécificité;
- b) Par contre, l'utilisation de réactifs révélant les propriétés oxydo-réductrices des dérivés de la phénothiazine conduisent à

une détection sensible et plus spécifique de ces dérivés. D'autre part la coloration d'un spot est un élément de caractérisation d'un dérivé puisque comme nous l'avons exposé précédemment, cette coloration varie selon la nature du substituant du carbone 3 du noyau phénothiazinique.

Deux grands groupes de réactifs "spécifiques" ont été utilisés. Tous rassemblent l'action d'un acide fort avec une molécule oxydante qui n'est parfois que l'oxygène atmosphérique. C'est ainsi qu'ont été préconisés :

- a) l'acide sulfurique à concentration plus ou moins grande (69, 83, 137), en présence d'un stabilisateur comme l'éthanol (5, 29, 30, 65, 151) ou d'un oxydant comme les ions ferriques (65, 149) ;
- b) les divers réactifs de FORREST et FORREST, parmi lesquels le réactif "universel" F.N.P., l'acide phosphorique et l'acide iodique (22), l'acide nitrique dilué et un sel ferrique (48, 137), l'acide nitreux (49), les vapeurs de brome (28).

Les réactifs oxydants précédents possèdent plusieurs inconvénients : leur pulvérisation est dangereuse et ne peut s'effectuer que sous une hotte en protégeant les objets voisins, certains conduisent à des colorations fugaces, enfin il est parfois difficile de conserver des chromatogrammes imprégnés d'acide fixe concentré et en particulier d'acide sulfurique. A ces inconvénients s'ajoutent les effets du pouvoir très oxydant ou de l'excès d'un réactif qui peuvent conduire au dépassement du premier stade coloré intéressant, en provoquant la succession — plus ou moins rapide — d'étapes d'oxydation dont les colorations, lorsqu'elles existent, ne sont plus utilisables pour l'identification.

Pour éviter l'ensemble de ces inconvénients sans perdre en rapidité, en spécificité et en sensibilité, nous avons tenté d'utiliser la réaction "quinone-acide minéral à forte concentration" et de l'adapter à la révélation des dérivés phénothiaziniques sur plaques de chromatographie en couche mince.

L'accepteur d'électron utilisé est la benzoparaquinone apporté par pulvérisation — après séchage des chromatoplaques — d'une solution 10^{-3} M dans le dichloroéthane. Cette solution est de bonne conservation à l'obscurité et est préparée par dilution au 1/10 d'une solution 10^{-2} M. Les inconvénients signalés ci-dessus avec certains réactifs acides empêchent d'utiliser une pulvérisation d'acide phosphorique à concentration élevée. Mais le milieu acide fort nécessaire au développement des réactions colorées est réalisé par l'immersion des chromatoplaques dans une atmosphère chlorhydrique se trouvant au-dessus d'une nappe d'acide chlorhydrique fumant ($d = 1,18$). Dans ces conditions, les colorations se développent en deux à trois minutes au niveau des spots de phénothiazines. Les plaques restent sèches mais, au fur et à mesure du départ des vapeurs chlorhydriques, les colorations s'atténuent puis disparaissent. Il est aisé par une nouvelle immersion dans les vapeurs acides de faire réapparaître, quelques heures ou quelques jours plus tard, les colorations témoignant la présence de dérivés de la phénothiazine. Cette technique permet également la révélation d'un grand nombre de métabolites phénothiaziniques après chromatographie des extraits urinaires de malades ayant absorbé de tels dérivés.

La sensibilité de cette réaction de révélation a été mesurée pour la chlorpromazine : elle permet de détecter 0,1 mcg de ce dérivé.

A l'occasion de cette étude, nous avons étudié les R_f absolus et relatifs (par rapport à la chlorpromazine), d'un certain nombre de dérivés utilisés en thérapeutique, choisis de telle manière à pouvoir mettre en évidence éventuellement l'incidence des divers substituants du noyau phénothiazinique sur les valeurs des R_f de ces dérivés.

Les *Tableaux VIII* et *IX* rassemblent les dénominations communes et la structure chimique de 21 dérivés de la phénothiazine ainsi que 4 dérivés non substitués sur l'azote 10.

L'étude chromatographique a été réalisée de la manière suivante :

- Adsorbant : couche mince de gel de silice avec indicateur de fluorescence Merk (20 cm. x 20 cm) ;
- Dépôt de 0,01 micromole de chacun des dérivés précédents ;
- Activation des chromatoplaques 1 heure à 105° C. ;

NOM COMMUN	R ₂	R ₁	λ max PQ
méthoxy-3 phénothiazine	OCH ₃	H	553 nm
chloro-3 phénothiazine	Cl	H	526
diméthylsulfamoyl-3 phénothiazine	SO ₂ N(CH ₃) ₂	H	513
cyano-3 phénothiazine	CN	H	514
lévomépromazine	OCH ₃	CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -N = (CH ₃) ₂	567
méthopromazine	OCH ₃	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	563
périméthazine	OCH ₃	CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -N  C-OH	568
chlorpromazine	Cl	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	527
chlorproéthazine	Cl	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N(C ₂ H ₅) ₂	526
pipamazine	Cl	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N  C-CO-NH ₂	527
prochlorpérazine	Cl	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N  N-CH ₃	528
perphénazine	Cl	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N  N-CH ₂ -CH ₂ -OH	527

TABLEAU VIII

STRUCTURE CHIMIQUE DE DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE
UTILISES POUR L'ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE.

(λ max. PQ = longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration développée en milieu phosphorique sous l'action de la benzoparaquinone).

NOM COMMUN	R ₂	R ₁	λ max. PQ
thiopropazate	Cl	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \quad \text{---} \end{array} \text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CO-CH}_3$	528 nm
promazine	H	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$	512
alimémazine	H	$\text{CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$	510
thiazinanium	H	$\text{CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-N} \equiv (\text{CH}_3)_3 +$	516
diéthazine	H	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(C}_2\text{H}_5)_2$	513
trifluoromazine	CF ₃	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$	498
trifluopérazine	CF ₃	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \quad \text{---} \end{array} \text{N-CH}_3$	497
thiopropérazine	SO ₂ N(CH ₃) ₂	<i>idem</i>	509
butapérazine	CO-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	<i>idem</i>	517
propioméazine	O-CO-CH ₂ -CH ₃	$\text{CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-N= (CH}_3)_2$	517
thioridazine	S-CH ₃	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \quad \text{---} \end{array} \text{N-CH}_3$	635
aceprométazine	CO-CH ₃	$\text{CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-N(CH}_3)_2$	516
cyamépromazine	CN	$\text{CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$	508

TABEAU IX

STRUCTURE CHIMIQUE DE DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE
UTILISES POUR L'ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE.

(λ max. PQ = longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration développée en milieu phosphorique sous l'action de la benzo-paraquinone.

- Saturation des enceintes : 2 heures;
- Migration du solvant à partir de la ligne des dépôts : 10 centimètres;
- Température de migration : 20° C.
- Révélation des spots : selon la technique précédente.
- Mélanges solvants :

		(Acétone	95
	A	(Ammoniaque (solution aqueuse à 20 p.cent) ..	5
		(Acétate d'éthyle	56
Solvant de GREEN	B	{ Acide acétique	17
et coll. (71)		{ Ethanol	17
		{ Eau	10
		(Chloroforme	50
Solvant de	C	(Méthanol	50
NOIRFALISE (121)			

Le *Tableau X* rassemble les valeurs des R_f relatifs de chaque dérivé par rapport à la chlorpromazine et pour chacun des trois systèmes solvants utilisés. Ces valeurs sont la moyenne des valeurs obtenues dans trois séparations chromatographiques différentes. Ces R_f relatifs sont beaucoup plus intéressants que les R_f absolus, ceux-ci pouvant varier de façon non négligeable lorsqu'on pratique des séparations sur couche mince.

Afin de pouvoir en tirer des conclusions, les dérivés étudiés ont été classés (cf ci-dessous) en deux grandes séries comportant chacune un certain nombre de sous-groupes :

- la première série est composée de sous-groupes dont le radical R_2 est commun à un certain nombre de dérivés tandis que ceux-ci diffèrent par la nature de la chaîne latérale fixée sur l'azote;
- la seconde série est composée de sous-groupes dans lesquels les dérivés possèdent la même chaîne latérale sur l'azote mais diffèrent par la nature du substituant du carbone 3 du noyau.

L'ensemble de ces données permet de tirer les conclusions suivantes :

- a) les quatre dérivés ne possédant pas de chaîne latérale sur l'azote 10 possèdent le même Rf quel que soit le système solvant utilisé;
- b) la nature de la chaîne latérale portée par l'azote 10 est responsable des variations importantes de Rf de ces dérivés qu'ils soient ou non porteurs d'un substituant sur le carbone 3;
- c) pour les dérivés possédant une chaîne latérale commune, la nature du substituant sur le carbone 3 module l'action de la chaîne latérale sur la valeur des Rf de chaque dérivé, et ce, dans les trois systèmes solvants utilisés.

	Solvant A	Solvant C	Solvant B
Acéprométazine	1 07	1 30	0 88
Alimémazine	1 27	1 15	0 91
Butapérazine	0 55	1 22	0 77
Chlorproethazine	1 13	1 27	1 06
Chlorpromazine	1 00	1 00	1 00
Cyamépromazine	1 50	1 31	0 97
Diéthazine	1 21	1 26	0 95
Lévomépromazine	1 35	1 19	0 95
Méthopromazine	0 83	0 91	0 88
Périméthazine	1 26	1 43	1 00
Pipamazine	0 99	1 25	0 98
Perphénazine	0 75	1 35	0 82
Prochlorpérazine	0 45	1 10	0 75
Promazine	0 77	0 76	0 85
Propiomazine	1 10	1 50	1 02
Thiazinamium	0 04	0 15	0 35
Thiopropazate	1 28	1 77	1 15
Thiopropérazine	0 49	1 05	0 56
Thioridazine	0 87	1 17	1 03
Trifluopérazine	0 70	1 16	0 85
Trifluopromazine	1 12	1 06	1 08
Chloro-3 Phénothiazine	1 83	1 75	Front du solvant
Cyano-3 Phénothiazine	1 80	1 80	"
Méthoxy-3 Phénothiazine	1 79	1 75	"
Diméthylsulfamoyl-3 Phénothiazine	1 77	1 77	"

TABLEAU X

VALEURS DES Rf RELATIFS DE 25 DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE.

[Rf relatif = $\frac{\text{Rf du dérivé}}{\text{Rf de la chlorpromazine}}$ dans les memes conditions]

- Solvant A = Acétone: 95, Solution aqueuse d'ammoniaque à 20 p. cent 5
- Solvant B = Acétate d'éthyle: 56, Acide acétique 17, Ethanol: 17, Eau: 10.
- Solvant C = Chloroforme: 50, Méthanol 50

1ère Série : R₂ commun, R₁ différent

R ₂ = Cl	R ₂ = OCH ₃	chloro-3 phénothiazine	lévomépromazine
		chlorpromazine	méthopromazine
		chlorproéthazine	périméthazine
			méthoxy-3 phénothiazine
	R ₂ = H	pipamazine	promazine
		prochlorpérazine	alimémazine
		perphénazine	diéthazine
		thiopropazate	thiazinamium

2ème Série : R₂ différent, R₁ commun

	R ₂	R ₁
chlorpromazine	Cl	diméthylaminopropyl
méthopromazine	OCH ₃	
promazine	H	
trifluopromazine	CF ₃	

	R ₂		R ₁
trifluopérazine	CF ₃	}	
thiopropérazine	SO ₂ N=(CH ₃) ₂		(méthyl-4' pipérazino 1') -
butapérazine	CO-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃		3 propyl
prochlorpérazine	Cl		
alimémazine	H	}	
lévomépromazine	OCH ₃		diméthylamino-3 méthyl-2 propyl
cyamépromazine	CN		
cyano-3 phénothiazine	CN	}	
méthoxy-3 phénothiazine	OCH ₃		
chloro-3 phénothiazine	Cl		H
diméthylsulfamoyl-3 phénothiazine	SO ₂ N(CH ₃) ₂		

CHAPITRE III

ETUDES ET APPLICATIONS QUANTITATIVES

31 - METHODES DECRITES ANTERIEUREMENT POUR LE DOSAGE DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE (basées sur des réactions colorées)

311 - METHODES DIRECTES S'APPLIQUANT A LA PLUPART DES DERIVES

3111 - L'action de l'acide sulfurique à forte concentration occupe une place importante dans ce chapitre. Dès 1949, DUBOST (40) avait appliqué la réaction colorée donnée par le Néo-Antergan avec l'acide sulfurique au dosage de cette molécule dans l'urine. En 1953, DUBOST et PASCAL (41) ont présenté une méthode de dosage de la chlorpromazine dans les milieux biologiques par réaction de ce dérivé avec l'acide sulfurique (d = 1,83) à 50 % en volume. Cette méthode a ensuite été appliquée au dosage d'autres dérivés dans les milieux biologiques, notamment à celui de la prométhazine (124) et, avec une variante [en utilisant de l'acide sulfurique (d = 1,83) additionné de 2 % d'éthanol] à la lévomépromazine (125). Cette addition d'éthanol faisait suite aux observations de DUBOST et PASCAL (42) sur l'instabilité des colorations obtenues avec certains échantillons d'acide sulfurique. Dans le même but, ces auteurs avaient préconisé l'addition de cinq volumes d'acide sulfurique pur à un volume de la solution aqueuse d'extraction ce qui permet d'augmenter la stabilité de la coloration mais en diminuant sa sensibilité par une plus grande dilution.

HUANG et RUSKIN (83) ont appliqué cette réaction au dosage de la chlorpromazine après isolement chromatographique : les taches sont découpées et mises à macérer dans de l'acide sulfurique à 50 % ; la solution acide est ensuite additionnée d'un tiers de son volume d'acide sulfurique pur. BRIGNON (19) a utilisé la méthode de DUBOST et PASCAL

H ₂ SO ₄ 50 %	1 volume H ₂ SO ₄ (d = 1,83) + 1 volume solution aqueuse d'extraction (t° > 100° C.)	DUBOST, PASCAL 1953 (41)
H ₂ SO ₄ 50 % éthanol	1 volume H ₂ SO ₄ (d = 1,83) additionnée de 2 % d'éthanol + 1 volume solution aqueuse d'extraction.	DUBOST, PASCAL 1955 (42)
H ₂ SO ₄ 84 %	5 volumes H ₂ SO ₄ (d = 1,83) + 1 volume de solution aqueuse d'extraction.	DUBOST, PASCAL 1955 (42)
H ₂ SO ₄ 62,5 %	3 volumes H ₂ SO ₄ 50 % + 1 volume H ₂ SO ₄ (d = 1,83)	HUANG, RUSKIN 1964 (83)
H ₂ SO ₄ 50 % + Br°	1 volume H ₂ SO ₄ (d=1,83) additionné de 1 % de son volume d'eau de Brome + 1 volume de solution aqueuse d'extraction.	BRIGNON 1955 (20)
H ₂ SO ₄ 50 % + H ₂ O ₂	1 volume H ₂ SO ₄ (d=1,83) + 1 volume solution aqueuse extraction : mélange effectué dans la glace; chauffage à 65° et addition de H ₂ O ₂ 0,1 p. cent.	BOLT, FORREST, SERRA 1966 (16)
H ₂ SO ₄ 25 % + Fe ³⁺	1 volume H ₂ SO ₄ 50 % (additionné de 75 mcg FeCl ₃ , 6 H ₂ O. par ml) + 1 volume solution aqueuse : mélange effectué dans la glace.	BOLT, FORREST 1967 (15)

TABLEAU XI

REACTIFS SULFURIQUES PRECONISES POUR LE DOSAGE DES DERIVES
DE LA PHENOTHIAZINE OU DE LEURS METABOLITES.

(41) pour le dosage de la chlorpromazine dans le sérum humain, mais préfère pour le dosage de la même molécule dans les urines, utiliser de l'acide sulfurique "bromé" (acide sulfurique à 50 % additionné du centième de son volume d'eau de brome) (20).

Enfin ALLGEN et ses collaborateurs (1) ont utilisé la réaction à l'acide sulfurique à 50 % pour étudier l'élimination urinaire chez l'homme de la méthoxypromazine.

La méthode de DUBOST et PASCAL conduit à des résultats acceptables. Néanmoins il faut retenir les faits suivants :

- les acides sulfuriques de diverses provenances ne donnent pas toujours des réactions stables;
- de nombreux auteurs ont élevé au-dessus de 50 % la concentration de l'acide sulfurique dans le milieu pour augmenter la sensibilité et la stabilité de la coloration (cf Tableau XI);
- la présence d'ions oxydants peut favoriser le développement de la réaction;
- certains auteurs ont ajouté au milieu réactionnel des traces d'oxydant comme le brome [BRIGNON (20)], l'eau oxygénée [BOLT et Coll. (16)] ou le chlorure ferrique [BOLT et FORREST (15)];
- d'autres, parmi lesquels ALLGEN (1) ont souligné que les mesures n'étaient pas toujours reproductibles;
- dans la technique de DUBOST et PASCAL, l'élévation de température (qui résulte du mélange d'un volume de solution aqueuse contenant le dérivé de la phénothiazine à un volume d'acide sulfurique pur) est très importante : la température dépasse 100° C.;
- enfin, pour cette méthode, l'étude concernant le développement de la coloration et sa stabilité ne montre pas des résultats constants.

Tous ces faits prouvent qu'il s'agit d'une réaction colorée dont la cinétique est difficile à contrôler et, de ce fait, seule l'utilisation d'étalons traités dans les mêmes conditions permet d'obtenir des résultats comparatifs utilisables. On sait que l'acide sulfurique agit par son pouvoir oxydant dans son milieu très acide, en présence de traces d'accepteurs d'électrons (comme l'oxygène dissous dans le milieu réactionnel ou les ions métalliques constituant les impuretés de l'acide), pour provoquer la formation de radicaux cations qui supportent les colorations observées.

3112 - C'est en utilisant le pentachlorure d'antimoine pour engendrer par voie chimique des radicaux cations à partir des dérivés de la phénothiazine que nous avons décrit, avec VIOSSAT, LETERRIER et DOUZOU (110) une méthode de dosage de ces dérivés par absorptiométrie dans le visible. Les colorations apparaissent et sont stables dans un solvant organique (le dichloroéthane) et il est seulement nécessaire d'effectuer la réaction après déshydratation complète de la solution organique pour éviter l'hydrolyse du réactif qui conduirait à la formation d'un oxychlorure insoluble dont la présence serait gênante pour les mesures absorptiométriques.

3113 - FOSSOUL (63) a proposé une méthode de dosage de la prométhazine en solution pure ou dans un extrait (extraction par l'éther en milieu alcalin à partir des urines d'un malade absorbant ce médicament) en utilisant la réaction colorée produite par l'oxydation ménagée de cette molécule sous l'influence du persulfate d'ammonium. Mais même en solution pure, l'absorption ne suit pas la loi de BEER et le coefficient d'extinction moléculaire "calculé" pour une concentration de 40 mg/litre est de 4100.

312 - METHODE INDIRECTE S'APPLIQUANT A PLUSIEURS DERIVES

DUPONTREUE (31, 43) a présenté une méthode originale basée sur la formation de dérivés aminés sur le noyau phénothiazinique et rapidement oxydables en colorants du groupe des thiazines. Le principe de cette réaction avait été décrit par BERNTHSEN (8) : cet auteur avait, en effet, formé le violet de Lauth après nitration de la phénothiazine base, suivie d'une réduction du dérivé dinitré et de la réoxydation de la leucothionine formée. DUPONTREUE a appliqué cette réaction aux dérivés de la phénothiazine (notamment chlorpromazine, prométhazine et lévomépromazine) et a défini les paramètres permettant l'obtention de colorations possédant un minimum de stabilité pour se prêter à des mesures absorptiométriques. Malgré cela, les résultats sont plus ou moins bons selon les dérivés utilisés. Les colorations obtenues ne sont pas différentielles (les longueurs d'onde des maximums d'absorption sont respectivement de 630 - 640 nm pour la chlorpromazine, la prométhazine et la diéthazine, 620 nm pour la lévo-

mépromazine). Quant aux coefficients d'extinction moléculaire, ils sont élevés pour la prométhazine et la chlorpromazine mais il est extrêmement faible pour la lévomépromazine (330 environ) ce qui rend inapplicable la méthode pour l'étude de l'élimination urinaire de ce dérivé très utilisé en thérapeutique (Nozinan N.D.). Enfin la technique est assez longue dans son exécution puisque le temps nécessaire pour effectuer une détermination est voisin d'une heure.

313 - METHODES PARTICULIERES

3131 - BAYFIELD et COLE (3) ont décrit une méthode de dosage de la phénothiazine base utilisant la réaction colorée formée au cours de la co-oxydation de la phénothiazine et de l'aniline par le brome. Cette réaction a fait l'objet, de plus, d'une application qualitative pour la révélation des spots des dérivés de la phénothiazine sur les chromatogrammes (28). L'utilisation du brome est délicate et plusieurs tentatives concernant son utilisation pour le dosage des dérivés de la phénothiazine ont été faites antérieurement.

3132 - GUNEW (73) a également proposé pour la phénothiazine base une méthode de dosage basée sur l'oxydation de cette molécule par l'eau oxygénée ou le chlorure ferrique, la coloration formée étant extraite par le butanol normal et colorimétrée.

3133 - Enfin, DELGA et SLIZEWICZ (35) ont utilisé la réaction colorée donnée seulement par la prométhazine et l'isothiazine lorsqu'on chauffe leur solution acide en présence de nitrate d'argent. Le minimum de sensibilité correspond à 30 microgrammes de prométhazine et le dosage de cette molécule en solution pure s'effectue dans de bonnes conditions entre 100 et 500 microgrammes dans les 5 millilitres du milieu réactionnel.

32 - UTILISATION DE LA REACTION A LA BENZOPARAQUINONE
POUR LE DOSAGE DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE

321 - REACTIFS UTILISES

- Acide phosphorique R.P. $d = 1,71$
- 1,2 dichloroéthane Merk n° 954
- Benzoparaquinone Merk

322 - APPAREILLAGE UTILISE

Spectrophotomètre SPILA type D.M.S., série X LERES, avec un enregistreur Minigraph type C.R./020, Cuve de un centimètre.-

323 - PREPARATION DE LA SOLUTION DE BENZOPARAQUINONE

La benzoparaquinone est dissoute dans le dichloroéthane à une concentration 10^{-2} M. Ce solvant est celui qui permet d'obtenir des solutions de bonne conservation à la différence des solutions aqueuses ou éthanoliques. Néanmoins, nous avons constaté que les solutions récentes de parabenzoquinone ne donnent pas de réactions très stables. Cet inconvénient est éliminé si on prend la précaution de n'utiliser ces solutions que deux ou trois jours après leur préparation.

En pratique, on prépare une solution 10^{-2} M de benzoparaquinone (108 milligrammes dans 100 millilitres de dichloroéthane); cette solution placée dans un flacon en verre blanc est laissée deux à trois jours à la lumière. Au fur et à mesure des besoins, on prépare par simple dilution au dixième dans le dichloroéthane la solution 10^{-3} M qui sera utilisée. Nous avons vérifié que les solutions précédentes se conservent plusieurs semaines.

324 - NATURE DE L'ACIDE UTILISE

De l'étude de l'action de la benzoparaquinone sur les dérivés de la phénothiazine placés en solution dans divers acides, nous avons conclu que l'intensité des colorations développées étaient dépendantes de la nature de l'acide et de sa concentration, (Figure 25).

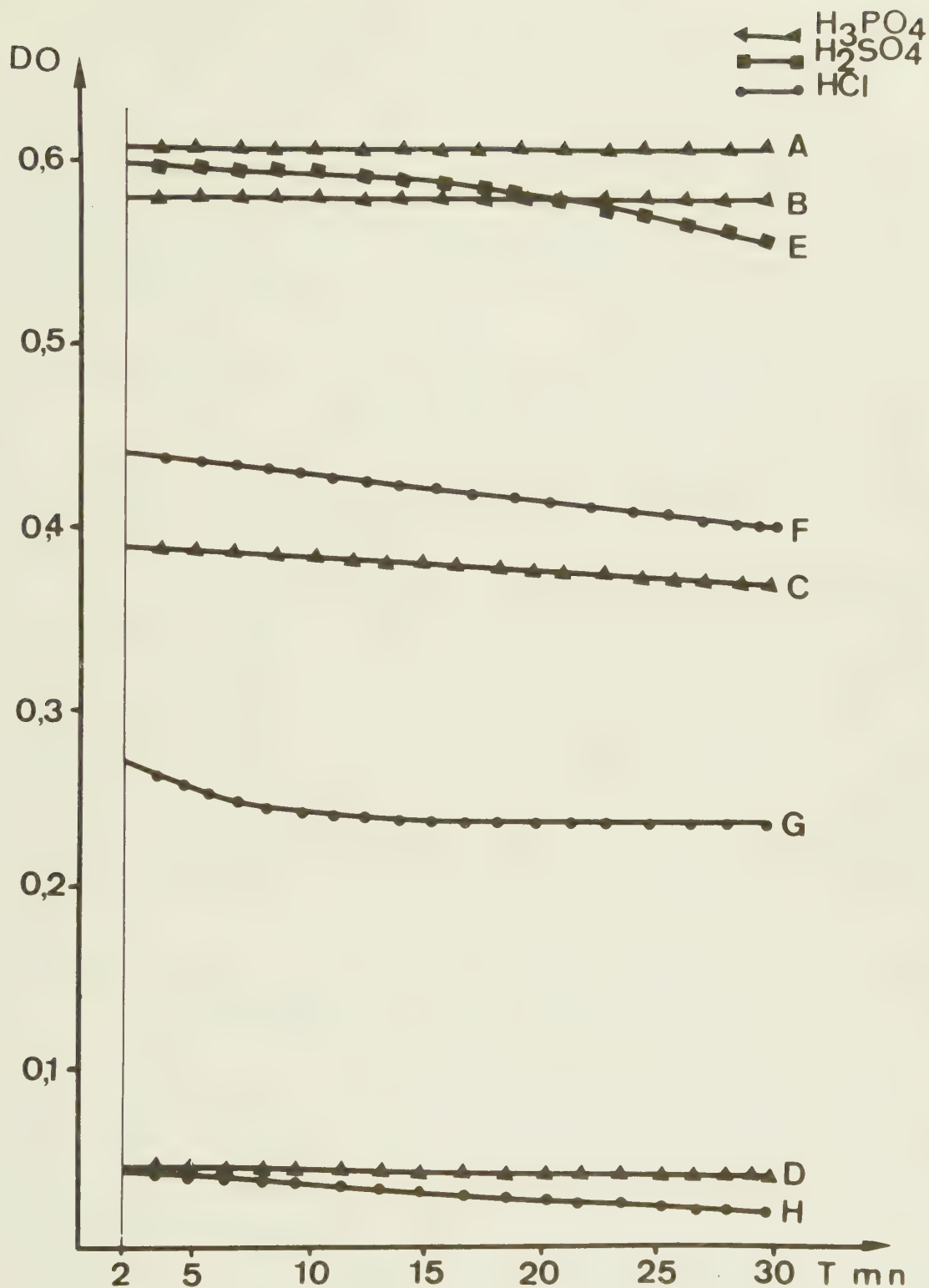


FIGURE 25 - CINETIQUE DES REACTIONS COLOREES DEVELOPPEES DANS DES SOLUTIONS ACIDES $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE.

A: H_3PO_4 d=1,71; B: H_3PO_4 d=1,71 3 volumes, Eau 1 volume; C: H_3PO_4 d=1,71 1 volume, Eau 1 volume; D: H_3PO_4 d=1,71 1 volume, Eau 3 volumes; E: H_2SO_4 d=1,83 1 volume, Eau 1 volume; F: HCl d=1,18; G: HCl d=1,18 1 volume, Eau 1 volume; H: HCl d=1,18 1 volume, Eau 3 volumes.

La plus grande stabilité est évidente pour l'acide phosphorique à une concentration au moins égale à 75 % (75 volumes de H_3PO_4 ($d = 1,71$) + 25 volumes d'eau distillée). Elle coïncide aussi avec les sensibilités les plus grandes. C'est donc l'acide phosphorique qui a été choisi pour l'étude que nous rapportons ici.

325 ETUDE DE L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE SUR LES SOLUTIONS
 $5 \cdot 10^{-5}$ M DE CHLORPROMAZINE DANS L'ACIDE PHOSPHORIQUE

Nous avons réalisé cette étude pour deux concentrations en acide phosphorique : H_3PO_4 $d = 1,71$ et H_3PO_4 ($d = 1,71$) dilué avec un tiers de son volume d'eau distillée.

5 ml de chacune de ces deux solutions (préparées extemporanément) sont additionnés de 0,8 ml de solution de benzoparaquinone 10^{-3} M dans le dichloroéthane. Après une forte agitation durant une minute, le mélange est centrifugé. La phase organique surnageante est éliminée et la solution acide colorée est placée dans la cuve de mesure.

Les densités optiques lues après cinq minutes de réaction sont respectivement de 0,600 pour le milieu acide phosphorique pur et 0,585 pour la solution phosphorique "diluée". La longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration est de 527 nm. Le spectre et les intensités des colorations restent stables durant un temps supérieur à 60 minutes. Sans addition de benzoparaquinone, les densités optiques restent inférieures à 0,100 dans les deux cas et durant le même temps.

326 ETUDE DES REACTIONS COLOREES POUR DIFFERENTES CONCENTRATIONS
DE CHLORPROMAZINE - Loi de BEER

Quatre concentrations en chlorpromazine ont été testées :

$1,25 \cdot 10^{-5}$ M, $2,5 \cdot 10^{-5}$ M, $3,75 \cdot 10^{-5}$ M et $5 \cdot 10^{-5}$ M.

Ces solutions ont été faites, d'une part dans H_3PO_4 pur ($d = 1,71$) et dans H_3PO_4 à 75 %.

Les intensités et les cinétiques de chaque réaction sont représentées dans la Figure 26.

La Figure 27 montre que la loi de Beer est fidèlement suivie pour la solution dans H_3PO_4 à 75 %. Le coefficient d'extinction moléculaire

calculé dans ces conditions est de 11.600. Il est peu inférieur à celui déduit des densités optiques obtenues dans H_3PO_4 pur (12.000 environ). La dilution de l'acide phosphorique ($d = 1,71$) avec le $\frac{1}{3}$ quant de son volume d'eau a donc une influence minime sur la sensibilité de la réaction colorée. C'est cette concentration en acide qui a été retenue pour la suite de ce travail, d'autant que cette solution a une viscosité moins grande que l'acide phosphorique "sirupeux" ce qui permet des mesures de volumes plus précises.

327 CINETIQUE DES REACTIONS COLOREES A PARTIR DE SOLUTIONS
DE CHLORPROMAZINE DANS LE DICHLOROETHANE - Loi de Beer

Par agitation vigoureuse d'un volume de solution de chlorpromazine dans le dichloroéthane avec le même volume de H_3PO_4 à 75% et après addition de 1 ml de solution 10^{-3} M de benzoparaquinone, on constate que la coloration se rassemble en totalité dans la phase acide inférieure.

L'étude des colorations développées a conduit aux manipulations et résultats suivants.

	CONCENTRATIONS FINALES EN CHLORPROMAZINE ($\times 10^{-5}$ M)					
	2	4	6	8	10	0
Solution 10^{-4} M de Chlorpromazine dans le dichloroéthane.	2 ml	4 ml	6 ml	8 ml	10 ml	/
Dichloroéthane ...	8 ml	6 ml	4 ml	2 ml	/	10 ml
H_3PO_4 à 75 %	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
Solution 10^{-3} M de benzoparaquinone dans le dichloro-éthane	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

Agitation vigoureuse durant deux minutes. Elimination de la phase organique surnageante. Centrifugation cinq minutes à 2.500 t/m. Lecture des densités optiques des phases colorées à 527 nm.

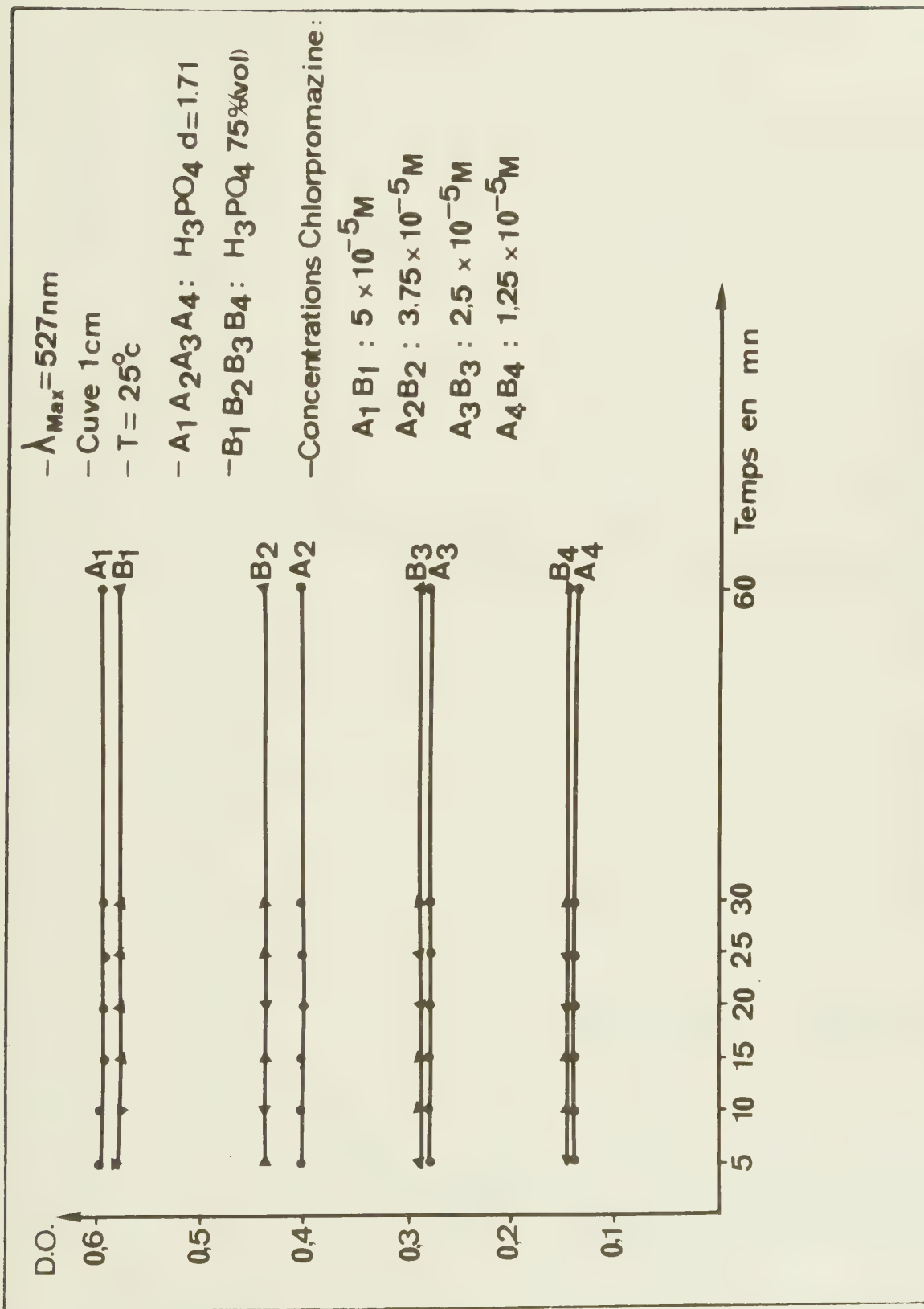


FIGURE 26 - CINETIQUE DES REACTIONS COLOREES DEVELOPPEES PAR DES SOLUTIONS DE CHLORPROMAZINE DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DANS H_3PO_4 d=1,71 et H_3PO_4 DILUE (H_3PO_4 d=1,71 3 volumes, Eau 1 volume) SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE.

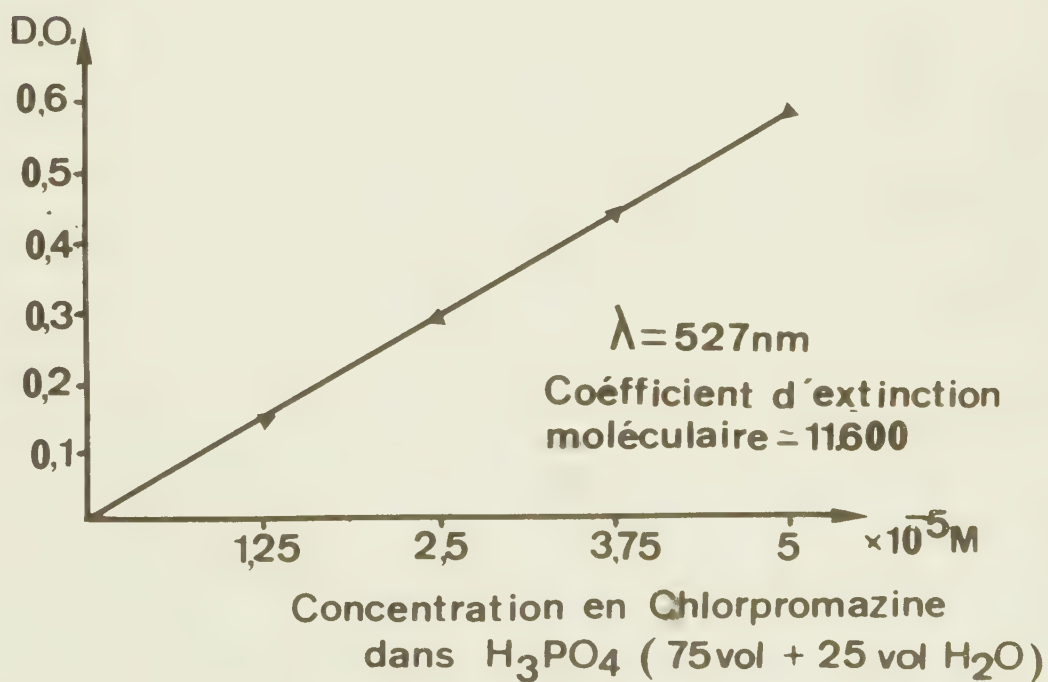
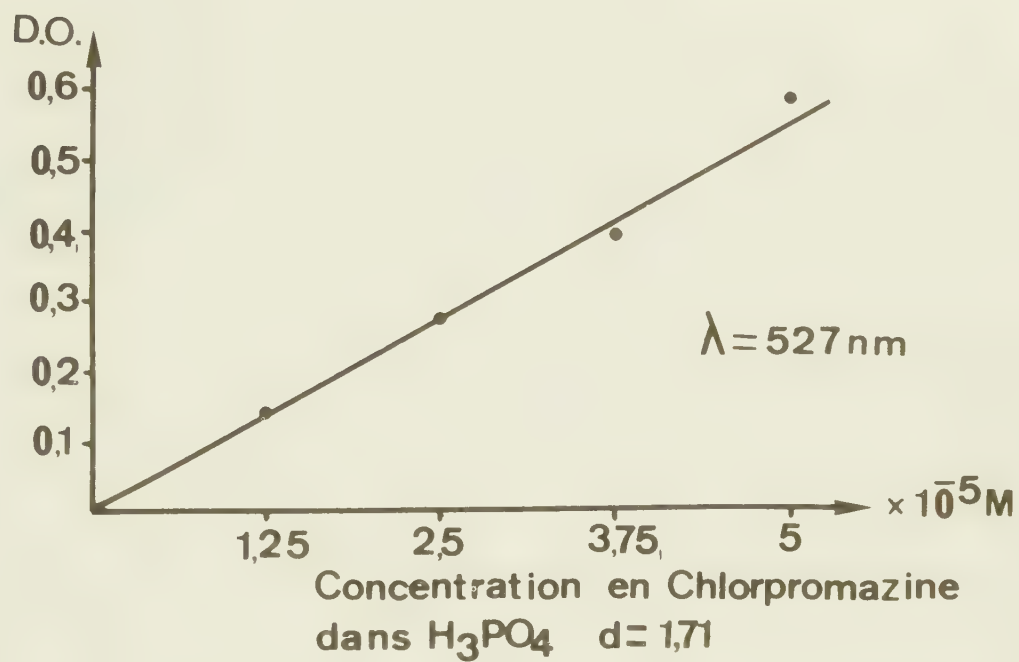


FIGURE 27 - LOI DE BEER POUR DES SOLUTIONS DE CHLORPROMAZINE
DANS H_3PO_4 $d = 1,71$ et H_3PO_4 DILUE.

Les valeurs des densités optiques en fonction du temps pour chaque concentration en chlorpromazine sont rassemblées ci-dessous.

CONCENTRATION EN CHLORPROMAZINE	TEMPS DE REACTION EN MINUTES						60
	6	10	20	30	40	50	
$2 \cdot 10^{-5}$ M	0,235	0,235	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
$4 \cdot 10^{-5}$ M	0,475	0,475	0,472	0,472	0,472	0,472	0,470
$6 \cdot 10^{-5}$ M	0,705	0,702	0,702	0,700	0,700	0,700	0,698
$8 \cdot 10^{-5}$ M	0,935	0,932	0,930	0,928	0,928	0,925	0,922
$10 \cdot 10^{-5}$ M	1,175	1,175	1,170	1,168	1,165	1,162	1,160

Les coefficients d'extinction moléculaire calculés pour chacune des concentrations (valeurs des densités optiques après 10 minutes de réaction) sont les suivants :

$2 \cdot 10^{-5}$ M :	11,750	$8 \cdot 10^{-5}$ M :	11,650
$4 \cdot 10^{-5}$ M :	11,875	$10 \cdot 10^{-5}$ M :	11,750
$6 \cdot 10^{-5}$ M :	11,700		

La Loi de Beer se trouve donc vérifiée même pour des concentrations élevées conduisant à des colorations dont les densités optiques voisinent ou dépassent 1,00.

La courbe d'étalonnage pour la chlorpromazine est représentée sur la *Figure 28*.

328 - REACTIONS OBTENUES A PARTIR DE SOLUTIONS AQUEUSES DE CHLORPROMAZINE.

Deux techniques ont été utilisées.

La première consiste à ajouter trois volumes d'acide phosphorique pur ($d = 1,71$) à un volume de solution aqueuse de chlorpromazine et à agiter la solution obtenue avec la benzoparaquinone.

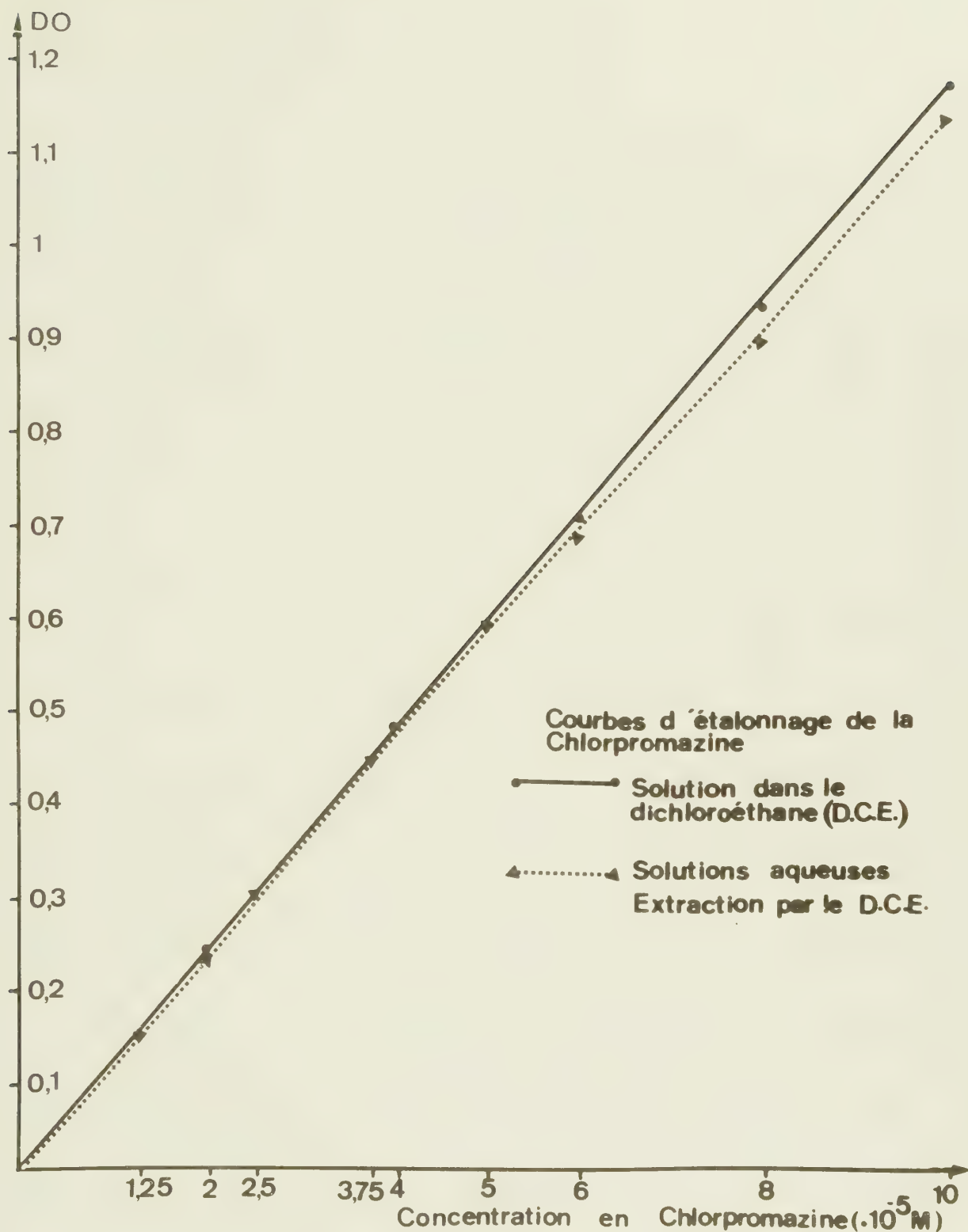


FIGURE 28 - COURBES D'ETALONNAGE DE LA CHLORPROMAZINE :

- a) à partir de solutions dans le dichloroéthane;
- b) à partir de solutions aqueuses et extraction par le dichloroéthane après alcalinisation.

5 ml de solution organique sont additionnés de 1 ml de solution de benzoparaquinone et agités énergiquement durant une minute avec 5 ml de H_3PO_4 à 75 %. Le mélange est ensuite centrifugé et la solution acide colorée est placée dans la cuve de mesure. Les densités optiques après 10 minutes de réaction sont les suivantes :

CONCENTRATION EN CHLORPROMAZINE ($\times 10^{-5}$ M)	DENSITE OPTIQUE
1,25	0,145
2	0,225
2,5	0,295
3,75	0,440
4	0,470
5	0,585
6	0,680
8	0,895
10	1,140

Ces résultats montrent que le coefficient d'extraction est voisin de 100 % jusqu'à une concentration de $5 \cdot 10^{-5}$ M. Pour des concentrations supérieures, la valeur du coefficient n'atteint que 96 %. *Figure 28.*

En réalisant l'étalonnage à partir de solutions aqueuses de concentrations connues, traitées dans les memes conditions que la solution à doser (extraction par le dichloroéthane en milieu alcalin, réaction colorée par mélange de l'extrait dans le dichloroéthane avec l'acide phosphorique en présence de benzoparaquinone), l'erreur est inférieure à 2 %.

329 INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA STABILITE DE LA REACTION.

Toutes les réactions précédentes ont été effectuées à la température du laboratoire voisine de 20° C. Les colorations développées atteignent leur maximum d'intensité en moins de 10 minutes et restent stables durant plus d'une heure; en effet, la diminution de densité optique après 60 minutes de réaction ne dépasse pas 1 %.

Nous avons mesuré l'influence d'une élévation de température sur la stabilité de la réaction en plaçant les tubes à 37° C. durant 30 minutes. Les résultats sont les suivants :

CONCENTRATION EN CHLORPROMAZINE ($\times 10^{-5}$ M)	DENSITES OPTIQUES (température maintenue à 20° C.)				DENSITES OPTIQUES APRES 30 MINUTES A 37° C. (entre la 5° et la 35° minu- te de la réaction)
	10 mn	20 mn	30 mn	40 mn	40 mn
1,25	0,140	0,140	0,140	0,140	0,140
2,5	0,290	0,290	0,290	0,290	0,282
3,75	0,452	0,452	0,455	0,455	0,440
5	0,592	0,592	0,592	0,592	0,585

Sans s'écarter notablement des conditions de température dans lesquelles les réactions ont été réalisées, on peut admettre que les simples variations de température du laboratoire ne peuvent avoir aucune influence sur les valeurs des densités optiques mesurées.

Le mécanisme radicalaire de la réaction semble donc s'accommoder au moins d'une légère élévation de la température.

330 - REPRODUCTIBILITE

Nous avons seulement étudié la reproductibilité de la réaction colorée développée avec une solution $5 \cdot 10^{-5}$ M de chlorpromazine dans le dichloroéthane agitée avec son volume d'acide phosphorique "dilué" et soumis à l'action de la benzoparaquinone.

- a) 10 déterminations de D.O. ont été faites sur la même solution (1 détermination par jour); les valeurs obtenues ont été les suivantes :

1	=	0,588	6	=	0,590
2	=	0,592	7	=	0,592
3	=	0,590	8	=	0,590
4	=	0,585	9	=	0,592
5	=	0,588	10	=	0,589

b) 10 déterminations de D.O. ont été faites au cours de ce travail et résultaient d'une vérification faite systématiquement à chaque nouvelle préparation de solution. Les valeurs obtenues ont été les suivantes :

1	=	0,584	6	=	0,590
2	=	0,588	7	=	0,585
3	=	0,590	8	=	0,590
4	=	0,588	9	=	0,592
5	=	0,592	10	=	0,590

La reproductibilité est donc parfaitement bonne : la valeur de la moyenne obtenue étant de 0,589 (6) avec des écarts ne dépassant pas $\pm 0,004$ dans le premier cas, 0,588 (9) dans le second cas avec des écarts inférieurs à $\pm 0,005$.

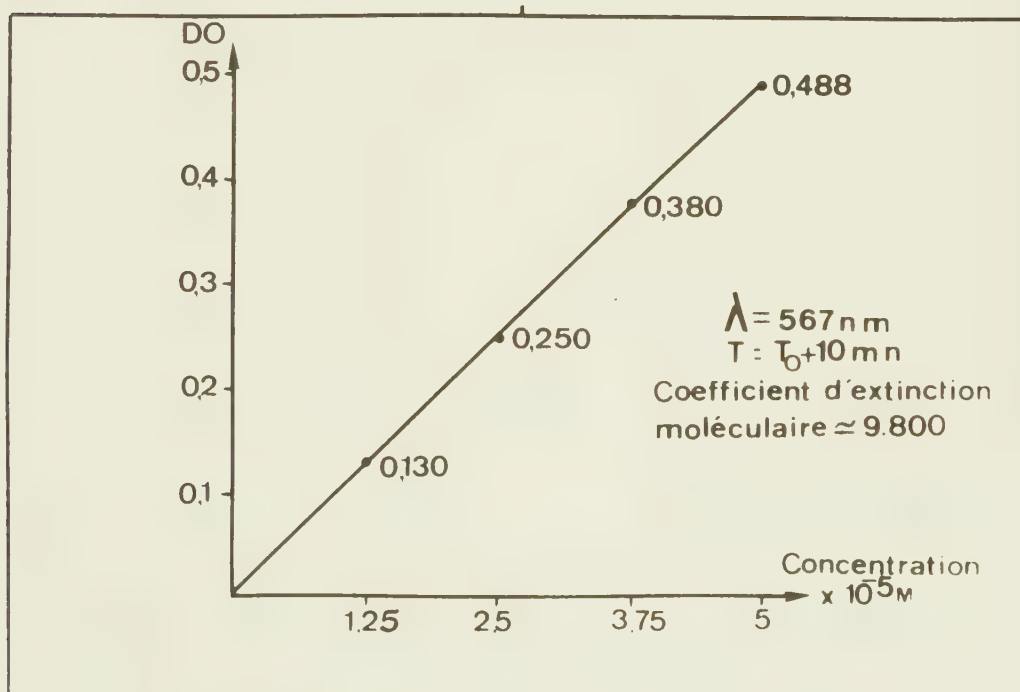
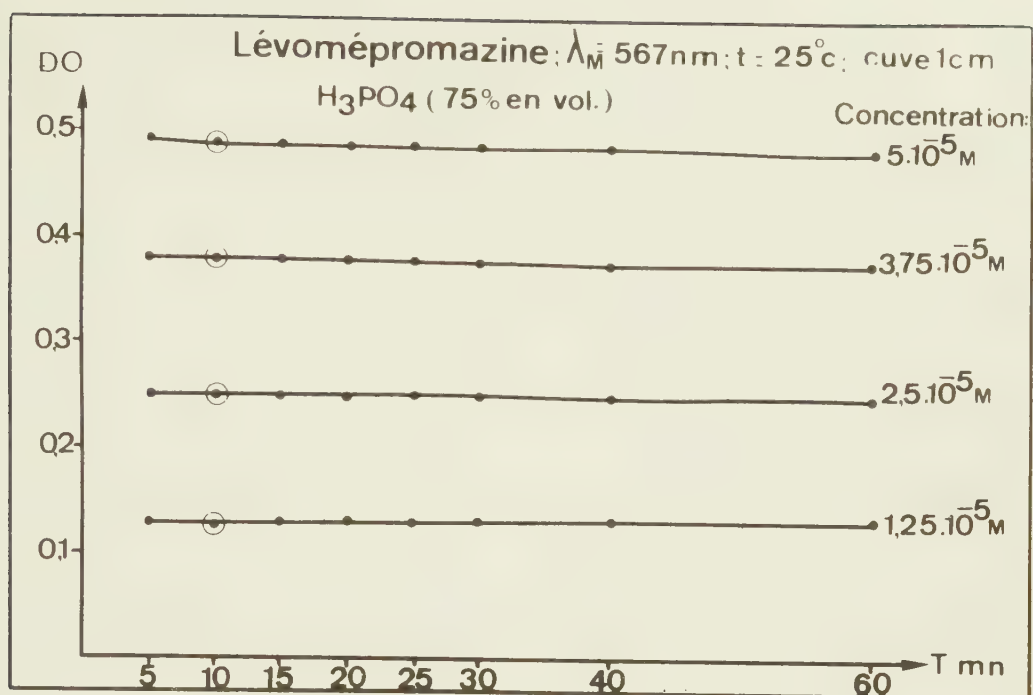
331 - ETUDE DE LA REACTION DEVELOPPEE PAR D'AUTRES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE

Deux dérivés ont été choisis d'une part en raison de leur utilisation fréquente en thérapeutique, d'autre part parcequ'ils conduisent à des colorations dont la λ max. est très différente de celle de la chlorpromazine

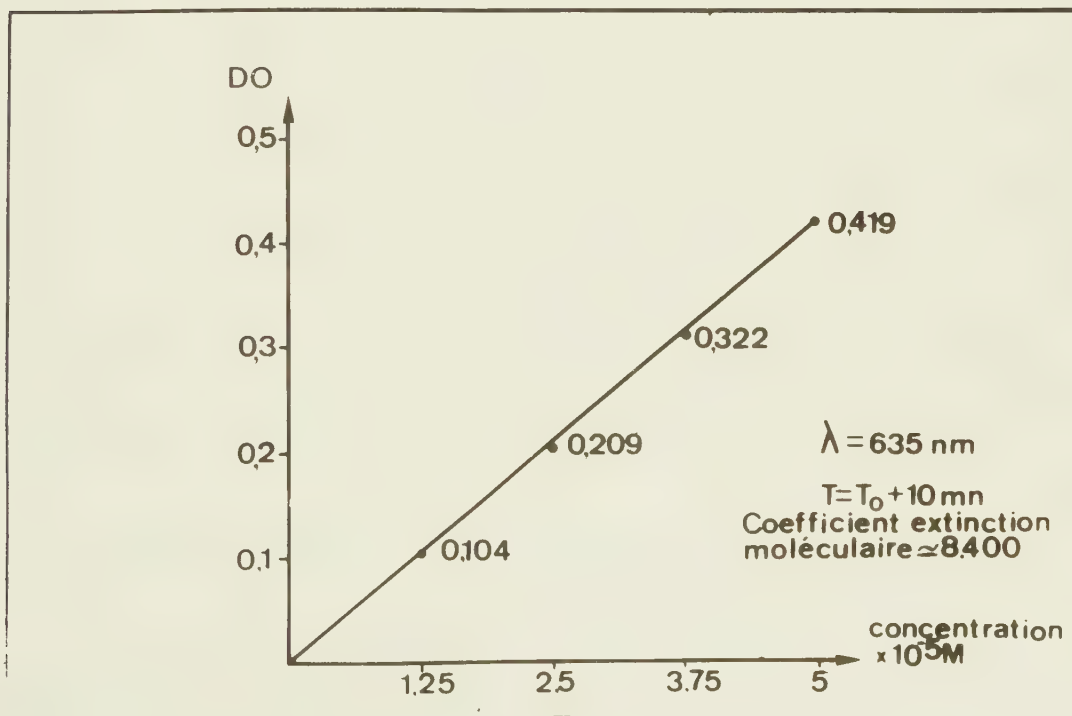
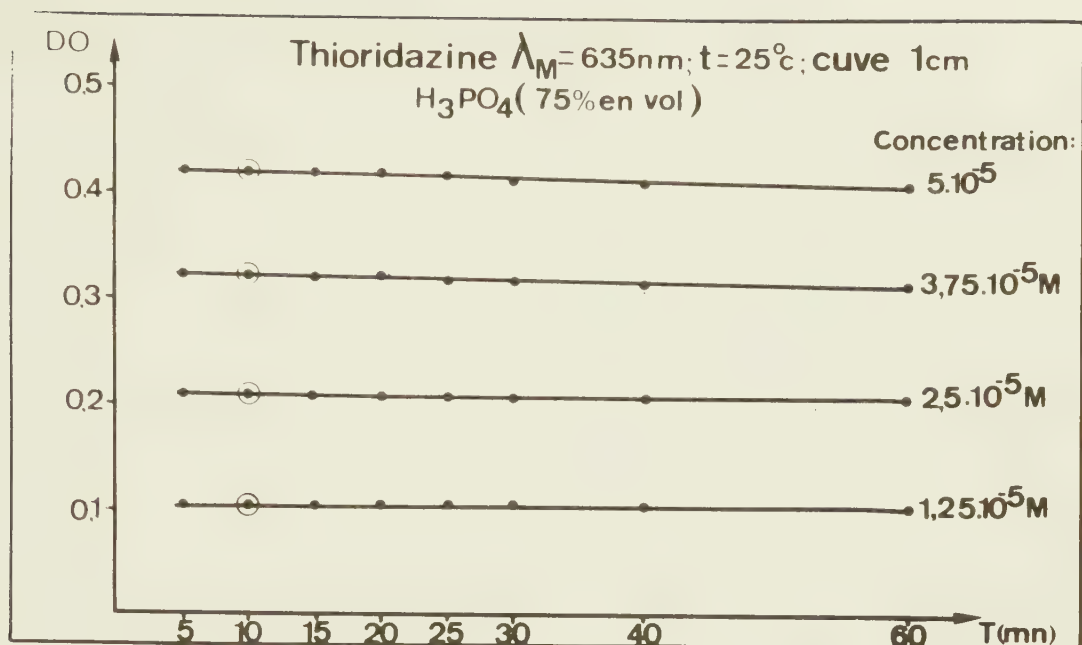
lévomépromazine	$R_2 = \bullet OCH_3$	λ max. = 567 nm
thioridazine	$R_2 = \bullet S-CH_3$	λ max. = 635 nm

Les Figures 29, 30, 31 et 32 montrent que dans les conditions de développement de la coloration décrite pour la chlorpromazine :

- a) des colorations se développent pour les deux dérivés précédents avec une sensibilité un peu inférieure, les coefficients d'extinction moléculaire étant respectivement de 9800 pour la lévomépromazine et de 8400 pour la thioridazine.
- b) Dans les deux cas, la loi de BEER est fidèlement suivie et la stabilité des colorations durant 60 minutes est très bonne.



FIGURES 29 et 30 : CINETIQUE DES REACTIONS COLOREES ET LOI DE BEER POUR LA LEVOMEPROMAZINE.



FIGURES 31 et 32 : CINETIQUE DES RÉACTIONS COLOREES ET LOI DE BEER POUR LA THIORIDAZINE.

- CHAPITRE IV -

APPLICATION DE LA REACTION A LA BENZOPARAQUINONE
A L'ETUDE DE L'ELIMINATION URINAIRE
DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE ET DE LEURS METABOLITES

Les dérivés de la phénothiazine ont fait l'objet de très nombreux travaux relatifs au métabolisme qu'ils subissent dès qu'ils sont introduits dans l'organisme.

La structure générale de ces dérivés permet d'envisager deux grandes séries de transformations métaboliques :

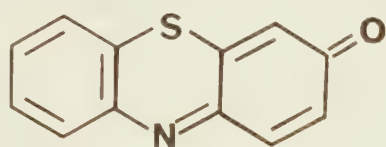
- a) celles qui affectent le noyau phénothiazinique (et éventuellement le radical R_2 substituant le carbone 3 du cycle aromatique ;
- b) celles qui modifient plus ou moins profondément la chaîne latérale R_1 fixée sur l'azote N_{10} .

Nous avons envisagé les applications possibles des réactions colorées décrites précédemment dans l'étude de l'élimination urinaire d'un dérivé phénothiazinique. Nous examinerons plus loin à la suite du rappel métabolique, les motifs qui nous ont conduit à limiter nos déterminations analytiques.

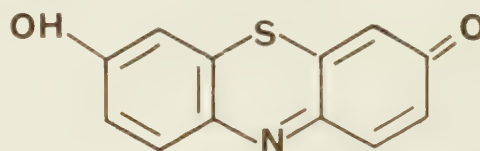
41 - RAPPEL CONCERNANT LE METABOLISME DE LA CHLORPROMAZINE

Le premier rapport de base relatif au métabolisme de ce dérivé a été donné en 1955 par SALZMAN, MORAN et BRODIE (141). Ces auteurs ont identifié dans les urines de malades absorbant ce médicament, la chlorpromazine non métabolisée et son sulfoxyde, estimant de 5 à 12 % de la dose journalière absorbée, la quantité totale éliminée dans les urines.

Les données acquises depuis de nombreuses années concernant le métabolisme de la *PHENOTHIAZINE* n'intéressent que très partiellement ses dérivés utilisés en thérapeutique. En effet, les travaux effectués sur la phénothiazine base montrent que se trouvent éliminés par les urines deux produits d'oxydation : la phénothiazone et le thionol.

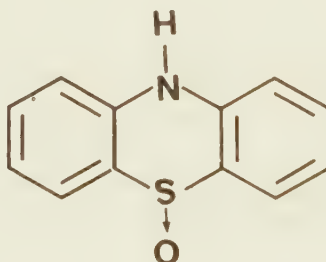


PHENOTHIAZONE



THIONOL

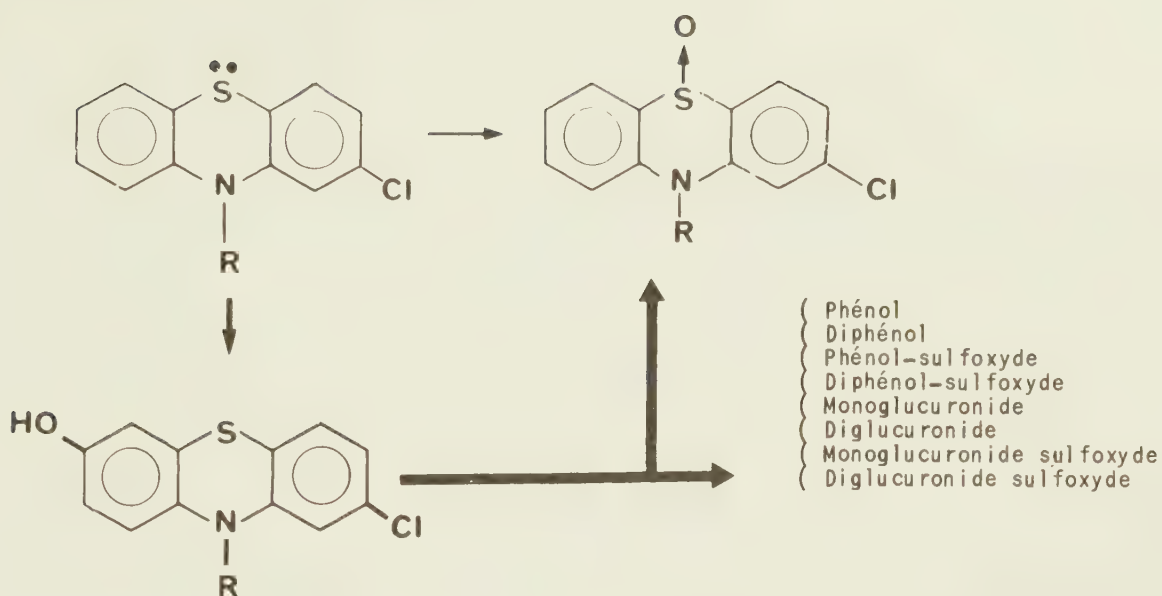
tandis que le sulfoxyde a été retrouvé dans le sang et l'humeur vitrée des veaux.



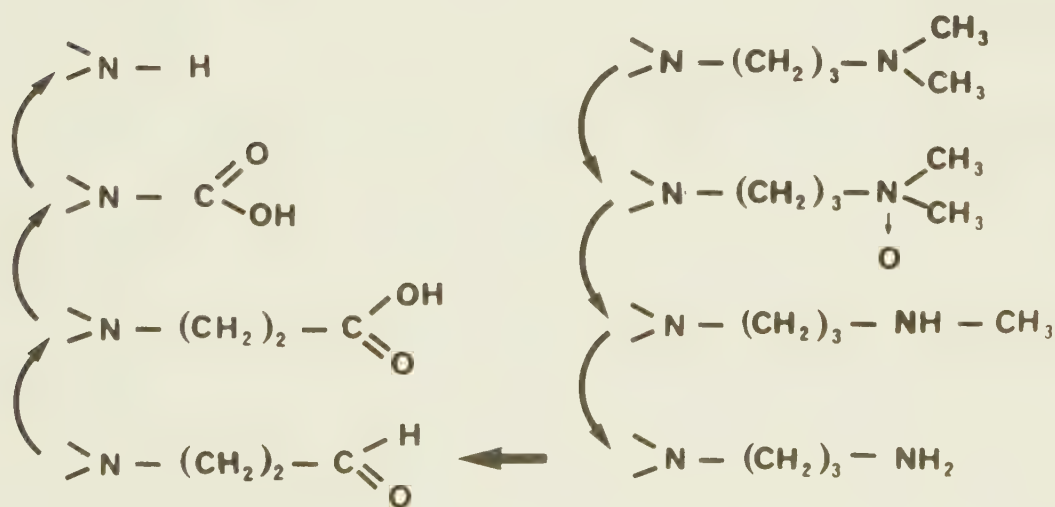
PHENOTHIAZINE SULFOXYDE

Mais le métabolisme de la chlorpromazine (et il en est de façon analogue pour tous les autres dérivés) est beaucoup plus complexe puisqu'en plus des oxydations intéressant le noyau phénothiazinique :

- la fixation d'une chaîne latérale sur l'azote assure des propriétés physico-chimiques nouvelles en rendant la molécule moins insoluble dans l'eau que la phénothiazine;
- la substitution éventuelle du carbone 3 du noyau par le chlore notamment, conduit à une densité électronique plus importante qui n'existe pas chez la phénothiazine base ou ses dérivés seulement N₁₀- substitués;



CHAQUE METABOLITE RESULTANT D'UNE MODIFICATION PORTANT SUR LE NOYAU (*ci-dessus*) PEUT EGALEMENT SUBIR UNE MODIFICATION DE SA CHAÎNE LATÉRALE (*ci-dessous*).



PRINCIPAUX METABOLITES
 POSSIBLES OU CONNUS
 DE LA CHLORPROMAZINE

FIGURE 33

- des biotransformations modifient, par étapes, la chaîne latérale et parfois atteignent également le substituant fixé sur le carbone 3 comme il en est le cas de la thioridazine que nous étudierons dans ce chapitre;
- Enfin les conjugaisons sulfuriques et glucuroniques s'effectuent sur les dérivés phénoliques du métabolisme.

C'est en 1960 que les travaux de FISHMAN et GOLDENBERG (48) ont révélé la complexité du métabolisme de la chlorpromazine et c'est en 1962 que PIETTE et FORREST ont présenté au "Premier Congrès International sur le Métabolisme, l'excrétion et le mode d'action des Drogues, dérivés de la Phénothiazine" de PARIS, le schéma métabolique de la chlorpromazine.

Nous reproduisons ci-dessous, *Figure 33*, les étapes métaboliques principales, ainsi que celles mises en évidence, in vitro, sous l'action des systèmes enzymatiques du foie de rat selon COCCIA et WESTERFELD (29). *Figure 34*.

Selon Irène FORREST (50), 168 métabolites différents peuvent théoriquement être formés dans l'organisme après absorption de chlorpromazine.

Dans l'urine, le même auteur pense que près de 80 métabolites peuvent être mis en évidence dont la grande majorité ne sont pas encore identifiés.

Selon Irène FORREST et ses Coll. (15, 16, 55), les métabolites principaux retrouvés dans les urines se répartissent de la manière suivante :

- a) 80 % de glucuronoconjugués des métabolites phénoliques de la chlorpromazine;
- b) la chlorpromazine sulfoxyde, les dérivés diméthylés de ce métabolite et de petites quantités de sulfones dérivant des composés précédents : ils représentent presque la totalité des autres métabolites excrétés;

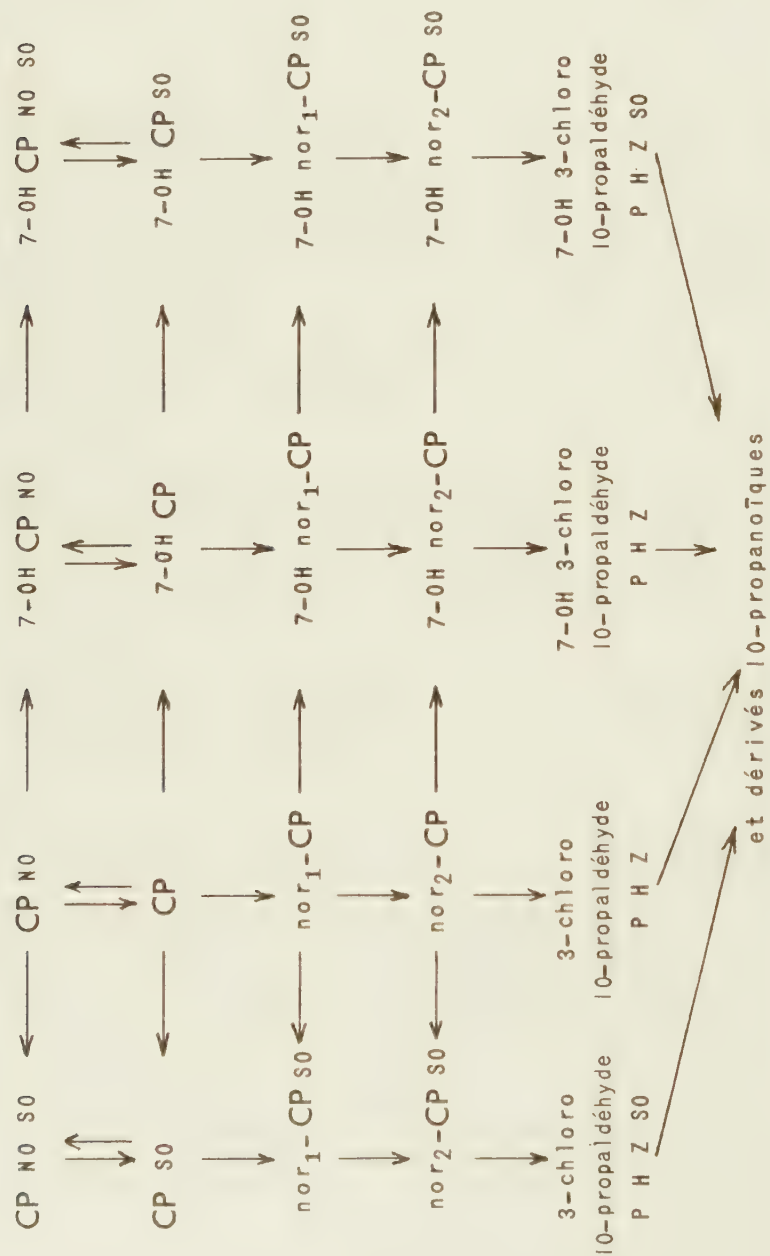
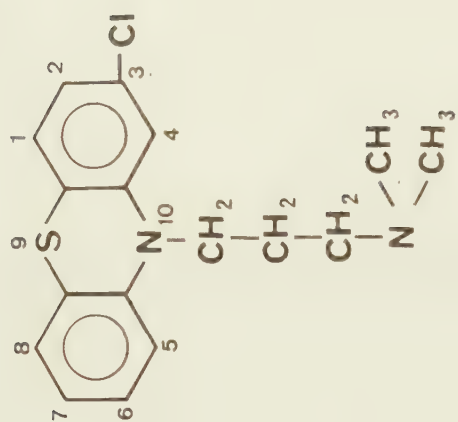


FIGURE 34 - METABOLISME IN VITRO DE LA CHLORPROMAZINE selon COCCIA et WESTERFIELD (29).

Une voie métabolique secondaire par hydroxylation en 2 n'est pas mentionnée.

Il en est de même des dérivés de conjugaison (mono et diglucurono-conjugués).

Abréviations utilisées : CP: chlorpromazine; CP SO : chlorpromazine sulfoxyde; CP SO NO : chlorpromazine sulfoxyde N-oxyde; 7-OH CP : 7-hydroxychlorpromazine; nor₁: dérivé monodéméthylé; nor₂: dérivé didéméthylé; PHZ: phénothiazine; PHZ SO : phénothiazine sulfoxyde.

- c) la 7-hydroxychlorpromazine, la 7-hydroxychlorpromazine sulfoxyde et leurs dérivés déméthylés représentent moins de 1 % des métabolites urinaires tandis que leurs métabolites désaminés constituent environ 1 % du contenu total de l'urine.
- d) enfin, les produits de désamination de la chlorpromazine et la chlorpromazine N-oxyde sont également présents ainsi que des traces de chloro-3-phénothiazine.

L'intensité et la complexité de ce métabolisme, l'impossibilité de nous procurer (en dehors d'un ou deux produits) les métabolites connus, les structures chimiques différentes des chaînes latérales de nombreux dérivés utilisés en thérapeutique, nous ont imposé de limiter notre travail analytique et de l'envisager sur un plan général.

En effet, les métabolites urinaires des dérivés de la phénothiazine peuvent être rangés selon JOHNSON et Coll. (87) en deux grandes classes

- a) les métabolites peu polaires extractibles par des solvants tel que le dichloroéthane en milieu alcalin. Parmi ces composés, se trouvent notamment (en ce qui concerne la chlorpromazine)

la chlorpromazine sulfoxyde;
la chlorpromazine N-oxyde;
la chlorpromazine sulfoxyde N-oxyde;
la monodéméthyl chlorpromazine) et leurs dérivés
la didéméthyl chlorpromazine) sulfoxydés;

ces deux derniers produits étant présents en quantité importante selon GREEN et FORREST (71).

- b) les métabolites hydroxylés et conjugués (y compris les dérivés hydroxylés et conjugués des métabolites du 1^{er} groupe), extractibles par des solvants organiques polaires [BECKETT et Coll. (4)], tel que le tétrahydrofurane préconisé par JOHNSON et Coll. (87) en milieu acide. Parmi ceux-ci se rencontrent notamment

- les mono et di glucuroconjugés des métabolites phénoliques de la chlorpromazine;
- les dérivés carboxyliques de la chlorpromazine et de ses métabolites, provenant de la dégradation oxydative de la chaîne latérale tel que la 3 chloro-10 (β -propanoïque) phénothiazine isolé dans les urines humaines en 1966 par RODRIGUEZ et ses coll. (139) (2 % des métabolites totaux).

Ils représentent environ 75 % de la quantité totale de la chlorpromazine excrétée.

42 - PARTIE EXPERIMENTALE

L'étude analytique que nous avons effectuée a été limitée à l'application de la réaction colorée développée par la benzoparaquinone en milieu phosphorique à l'étude de l'élimination des métabolites urinaires des dérivés phénothiaziniques.

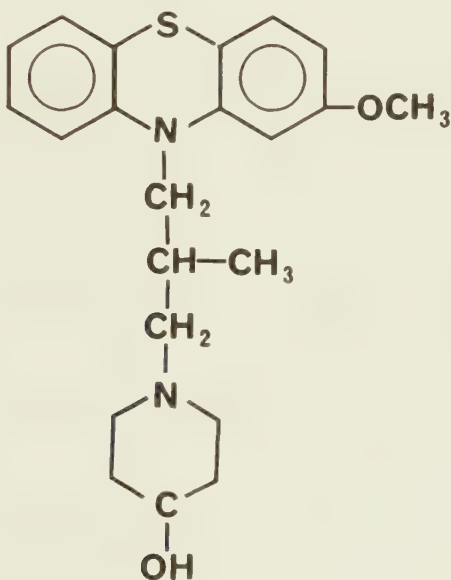
Nous devons dès maintenant remarquer que les résultats obtenus sont globaux, étant donné :

- que les métabolites extraits ont sans doute des cinétiques de colorations différentes;
- que les λ max. des colorations développées avec les divers métabolites d'un même dérivé phénothiazinique peuvent s'éloigner de la valeur de la λ max. du produit pur, puisque certaines transformations métaboliques affectent le noyau phénothiazinique et que nous avons observé précédemment que l'existence de substituants du noyau et leur nature étaient responsables de la valeur de cette λ max. Cette remarque s'applique essentiellement aux métabolites phénoliques ou conjugués des phénothiazines;
- que les coefficients d'extinction moléculaire sont variables puisqu'il en était déjà ainsi pour les dérivés phénothiaziniques utilisés en thérapeutique.

Enfin, il s'agit seulement d'un travail analytique permettant de tester une technique et non d'une étude de métabolisme.

421 - ELIMINATION URINAIRE DES METABOLITES PEU POLAIRES D'UN DERIVE DE LA PHENOTHIAZINE (métabolites extractibles par le dichloro-éthane en milieu alcalin).

Cette étude a été réalisée chez un malade soumis à une thérapeutique à la PERIMETAZINE [méthoxy-3 (hydroxy-4'' pipéridine)-3' méthyl-2' propyl -10 phénothiazine]. *Figure 35.*



- FIGURE 35 -

STRUCTURE
DE LA
PERIMETAZINE.

Le choix a été dicté par le fait que la conduite de la thérapeutique telle qu'elle est définie ci-dessous convenait particulièrement pour le but que nous nous étions fixé.

- posologie du premier jour (voie orale) : 25 mg;
- augmentation journalière de 25 mg jusqu'à l'obtention d'une dose de 300 mg;
- maintien de la dose de 300 mg/jour pendant 8 jours;
- suppression de la thérapeutique après passage à deux étapes de posologie décroissante : 200 puis 100 mg/jour.

A cet avantage quant à la progression régulière de la posologie, se sont ajoutés

- la régularité des prélèvements durant 25 jours (seuls 4 recueils d'urine n'ont pu avoir lieu),
- la fiabilité dans ces prélèvements due à la collaboration du malade et à la surveillance dans le service hospitalier;
- le fait que le malade n'avait pas subi antérieurement de traitement par les dérivés de la phénothiazine et que la périmétazine était le seul dérivé de cette série à lui être administré.

4211 - Nous avons d'abord vérifié le rendement d'extraction de la périmétazine ajoutée à un échantillon d'urine, dans les conditions suivantes.

La solution aqueuse étalon de périmétazine a été préparée à une concentration 10^{-3} M (soit 38,45 mg dans 100 ml d'eau).

Les surcharges de l'urine ont été effectuées avec une solution 10^{-4} M, comme il est indiqué ci-dessous, afin de connaître le rendement d'extraction pour diverses concentrations.

L'extraction à partir d'un volume d'urine a été conduite après alcalinisation par NaOH (concentration finale 2,0 N) avec le même volume de dichloroéthane.

CONCENTRATION DE L'URINE EN PERIMETAZINE ($\times 10^{-5}$ M)						
	0	2	4	6	8	10
Urines surchargées en périmétazine à la concentration de 10^{-4} M (en ml)	0	4	8	12	16	20
Urines	20	16	12	8	4	0
NaOH 10 N	5	5	5	5	5	5
Dichloroéthane	20	20	20	20	20	20

Après agitation vigoureuse trois fois durant deux minutes, la solution organique est recueillie par centrifugation et lavée une fois avec 10 ml d'eau distillée.

Après centrifugation, la phase organique est déshydratée par agitation avec deux grammes environ de sulfate de sodium anhydre.

5 ml de chaque extrait sont prélevés, additionnés d'un ml de solution 10^{-3} M de benzoparaquinone, et vigoureusement agités contre 5 ml d'acide phosphorique "dilué".

Les densités optiques sont lues à la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration (567 nm). Les valeurs obtenues sont les suivantes :

CONCENTRATION URINAIRE EN PERIMETAZINE	DENSITE OPTIQUE (max. 567 nm, cuve 1 cm)	RENDEMENT D'EXTRACTION
$2 \cdot 10^{-5}$ M	0,190	98 %
$4 \cdot 10^{-5}$ M	0,380	98 %
$6 \cdot 10^{-5}$ M	0,570	98 %
$8 \cdot 10^{-5}$ M	0,770	99 %
$10 \cdot 10^{-5}$ M	0,940	97 %

(Coefficient d'extinction moléculaire de la PERIMETAZINE dans H_3PO_4 "dilué" en présence de benzoparaquinone: 9.700; calculé pour une solution $5 \cdot 10^{-5}$ M de PERIMETAZINE).

4212 - Technique utilisée pour l'étude des éliminations urinaires.

100 ml d'urines sont alcalinisés par 25 ml de solution aqueuse de NaOH 10 N et extraits par 50 ml de dichloroéthane.

Après agitation vigoureuse deux fois durant 5 minutes, la phase organique est isolée par centrifugation, lavée avec 40 ml d'eau distillée, séchée par agitation avec 5 grammes de sulfate de sodium anhydre.

Un volume de l'extract organique est agité avec un volume adéquat d'acide phosphorique (acide phosphorique = 1,71 dilué avec un tiers de son volume d'eau), en présence de un millilitre de solution de benzoparaquinone (concentration 10^{-3} M).

Après agitation vigoureuse (deux fois durant une minute), la phase aqueuse acide est recueillie par centrifugation et sa densité optique est mesurée à la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration (567 nm).

Dans tous les cas, nous avons étudié la cinétique du développement et la stabilité de la coloration.

4213 - RESULTATS. Le *Tableau XII* montre l'évolution des colorations durant la 15^{ème} et la 60^{ème} minute pour neuf échantillons d'urines.

Comme le montre ce tableau, les intensités des colorations sont maximum vers la vingtième minute et ce sont ces valeurs qui ont été retenues pour le calcul des éliminations journalières. Le temps séparant l'addition de la benzoparaquinone de la lecture spectrophotométrique est voisin de quinze minutes; il est donc difficile de connaître en détail la cinétique du développement de la coloration, ce qui n'est pas d'une grande importance.

Le *Tableau XIII* rassemble, pour les urines de chaque jour de traitement, les principaux éléments permettant de calculer l'élimination par 24 heures (exprimée en milligrammes de périmétazine) de la périmétazine et de ses métabolites urinaires extréctibles en milieu NaOH 2,0 N par le dichloroéthane. Sachant que le poids moléculaire de la périmétazine est de 384,5 grammes et que son coefficient d'extinction moléculaire est de 9.700, la formule donnant la quantité éliminée par 24 heures est la suivante :

$$\begin{aligned} \text{Elimination urinaire} &= \frac{384,5 \times \text{Densité optique} \times \text{Diurèse en l.})}{9.700 \times \text{Rapport du volume initial d'urines}} \\ \text{exprimée en mg/24 h.} & \\ \text{de périmétazine} & \quad \text{au volume de solution phosphorique} \\ & \quad \text{qui lui correspond.} \end{aligned}$$

<i>Urines du :</i>	15 minutes	20 minutes	30 minutes	40 minutes	50 minutes	60 minutes
3° jour	0,363	<u>0,365</u>	0,361	0,360	0,358	0,355
4° jour	0,565	<u>0,572</u>	0,569	0,565	0,560	0,560
8° jour	0,430	<u>0,430</u>	0,435	0,435	0,430	0,428
9° jour	1,030	<u>1,030</u>	1,025	1,020	1,020	1,018
11° jour	0,300	<u>0,301</u>	0,304	0,300	0,295	0,290
12° jour	0,356	<u>0,361</u>	0,357	0,355	0,355	0,350
15° jour	0,565	<u>0,570</u>	0,564	0,554	0,550	0,540
21° jour	0,575	<u>0,575</u>	0,575	0,570	0,568	0,568
22° jour	0,410	<u>0,416</u>	0,413	0,415	0,408	0,396

TABLEAU XII

VALEUR, EN FONCTION DU TEMPS, DES DENSITES OPTIQUES
DES COLORATIONS DEVELOPPEES EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA
BENZOPARAQUINONE PAR 9 EXTRAITS URINAIRES D'UN MALADE ABSORBANT DE LA
PERIMETAZINE (λ max. = 567 nm).

	DOSE de PERIMETAZINE ABSORBÉE (en mg)	DIURESE (en ml)	CONCENTRATION de l'EXTRAIT URINAIRE (nombre de fois) (*)	D. O.	ELIMINATION en 24 h. (exprimée en mg de PERIMETAZINE)
1 ^{er} jour	25	1000	16	0,132	0,326
2 ^e jour	25	1450	16	0,252	0,904
3 ^e jour	50	1900	16	0,365	1,715
4 ^e jour	75	1850	16	0,572	2,615
5 ^e jour	100	1950	8	0,381	3,68
6 ^e jour	125	1800	8	0,483	4,31
7 ^e jour	150	2200	8	0,481	5,23
8 ^e jour	175	2100	5	0,430	7,16
9 ^e jour	200	1400	5	1,030	11,42
10 ^e jour	225	/	/	/	/
11 ^e jour	225	2200	2	0,301	13,11
12 ^e jour	250	2000	2	0,361	14,30
13 ^e jour	275	1000	2	0,452	15,66
14 ^e jour	300	/	/	/	/
15 ^e jour	300	1750	2	0,570	19,74
16 ^e jour	300	/	/	/	/
17 ^e jour	300	2100	2	0,630	26,17
18 ^e jour	300	1950	2	0,664	25,60
19 ^e jour	300	/	/	/	/
20 ^e jour	300	2200	2	0,707	28,70
21 ^e jour	300	2400	2	0,575	27,15
22 ^e jour	200	1900	2	0,416	15,67
23 ^e jour	100	1900	4	0,702	13,20
24 ^e jour	0	2000	12	0,184	1,21
25 ^e jour	0	Echantillon	12	< 0,100	/

TABLEAU XIII

(*) La concentration de l'extrait urinaire représente le produit des concentrations effectuées respectivement par l'extraction et par la coloration.

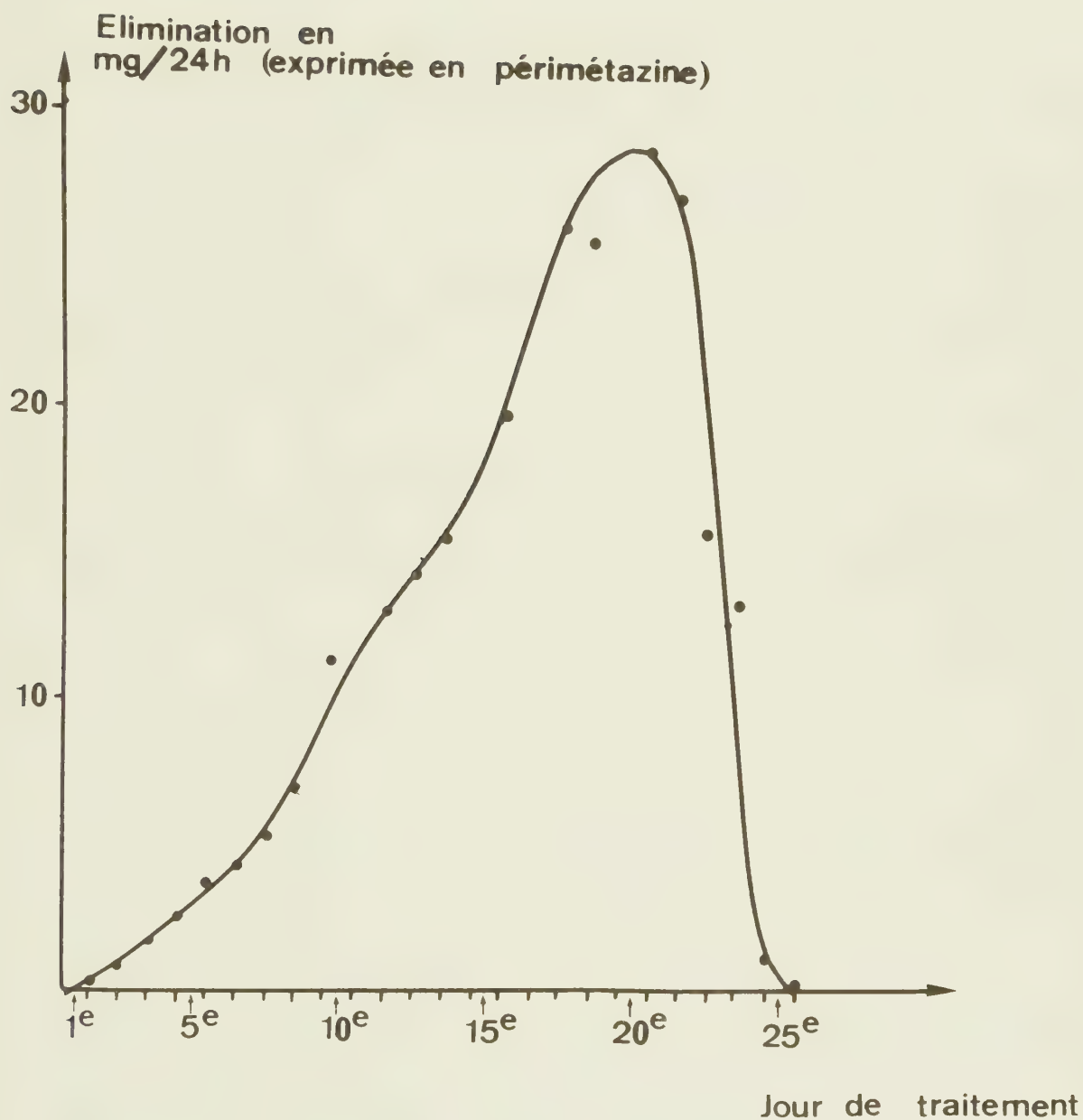


FIGURE 36 - COURBES REPRESENTANT L'ELIMINATION URINAIRE PAR 24 HEURES DES METABOLITES DE LA PERIMETAZINE (EXTRACTIBLES PAR UN SOLVANT PEU POLAIRE EN MILIEU ALCALIN) AU COURS D'UN TRAITEMENT DE 25 JOURS CHEZ UN MEME MALADE.

La Figure 36 représente la courbe d'élimination en fonction du temps. Elle montre en particulier que :

- l'élimination urinaire croît régulièrement en fonction de la dose absorbée;
- la quantité éliminée représente un pourcentage de la dose administrée qui croît régulièrement au cours du traitement. Elle est en effet inférieure à 5 % durant les huit premiers jours, comprise entre 5 et 10 % durant les quinze jours suivants avec un palier pour une valeur voisine de 9 % à partir du quatrième jour de posologie à 300 mg par 24 heures;
- l'élimination des métabolites (dosés par la technique précédente) devient pratiquement nulle dans les 48 heures qui suivent l'arrêt de l'absorption du médicament.

4214 - Etude chromatographique des extraits.

Sur chaque extrait nous avons pratiqué, après concentration adéquate par évaporation sous courant d'azote, une chromatographie en couche mince sur gel de silice, en utilisant comme solvant le mélange suivant :

Acétone 95 volumes,
Solution aqueuse d'ammoniaque à 20 % ... 5 volumes.

Simultanément, nous avons chromatographié :

- un étalon de périmétazine,
- le sulfoxyde de la périmétazine préparé extemporanément sur la plaque de CCM par oxydation à l'aide de l'eau oxygénée à 30 volumes, selon la technique décrite par KOFOED et coll. (95) (dépôt de 0,01 micromole de périmétazine suivi d'un dépôt de 5 mcl d'eau oxygénée à 30 volumes).

La révélation des chromatogrammes s'est effectuée selon la technique décrite au Chapitre III.

Nous avons ainsi mis en évidence que les extraits dans le dichloroéthane contenaient presque exclusivement la périmétazine et son sulfoxyde (Rf - relatif du sulfoxyde par rapport à la périmétazine 0,75) et ce quelle que soit la dose absorbée au cours du traitement de ce malade.

Ces résultats confirment les observations de FORREST (50) relatives à l'élimination urinaire des métabolites de la chlorpromazine. Cet auteur a montré qu'au cours d'un traitement prolongé :

a) 20 à 70 % de la quantité ingérée se trouve éliminée par les urines (en moyenne un peu moins de 50 %);

b) le rapport
$$\frac{\text{métabolites conjugués}}{\text{métabolites non conjugués}}$$
 varie de 2 à 11,

mais est fréquemment voisin de 4 (les métabolites non conjugués représentant alors 20 % de l'élimination urinaire totale).

En considérant ce dernier pourcentage comme valeur moyenne, nous pouvons calculer avec les résultats que nous avons obtenus pour le 7^{ème} jour à 300 mg de dose journalière de périmétazine: 30 mg d'élimination de produits non conjugués soit, s'ils représentent 20 % de l'élimination totale, une élimination journalière du produit administré et de ses métabolites voisine de 150 mg c'est-à-dire la moitié de la dose administrée.

4215 - Etudes des spectres des colorations développées par les extraits dans le dichloroéthane des urines alcalinisées.
Cas particulier de la thioridazine.

Le Tableau XIV rassemble notamment les longueurs d'onde des maxima d'absorption des colorations développées en pratiquant la réaction sur les extraits obtenus à partir d'urines de malades absorbant divers dérivés de la phénothiazine.

Dans la majorité des cas, les λ max. sont identiques ou très voisines de celles observées avec les produits purs. En particulier, les Figures 37 et 38 représentent les spectres obtenus chez des malades absorbant de la chlorpromazine et de la lévomépromazine. On peut noter que le développement de la coloration est un peu plus lent qu'avec les produits purs et que la stabilité de la coloration est bonne.

	Concen- tration	Maximum secondaire (m)	Maximum principal (max.)	DO _m	DO _{max.}
HEL... 300 mg thioridazine	1	516	638	0,703 0,670	0,721 0,672
GIN... 100 mg chlorpromazine	2	/	526	/	0,165
VAL... 100 mg thioridazine	2	513	636	0,150	0,180
CUL... 50 mg thioridazine	4	/	/	/	/
HEL... 300 mg thioridazine	1	515	639	0,425	0,495
LUT... 150 mg thioridazine	2	513	638	0,205	0,310
LOG... 150 mg prométhazine (voie intramusculaire)	1	/	514	/	0,560
GAU... 20 mg acéprométhazine	8	/	517	/	0,560
MAR... 100 mg lévomépromazine	2	/	566	/	0,510
VID... 250 mg fluphénazine 250 mg trifluopromazine	8	/	500	/	0,225
LOG... 150 mg prométhazine 75 mg lévomépromazine	2	565 570	516	0,550	0,925
LUT... 150 mg thioridazine	2	517	638	0,202	0,292
GIN... 100 mg chlorpromazine	2	/	526	/	0,170

TABLEAU XIV

λ max. DES COLORATIONS DEVELOPPEES PAR LA REACTION
"ACIDE PHOSPHORIQUE - BENZOQUINONE" AVEC LES EXTRAITS DANS LE DICHLOROETHANE
OBTENUS AVEC LES URINES ALCALINISEES DE MALADES ABSORBANT DIVERS DERIVES
DE LA PHENOTHIAZINE.

En ce qui concerne la thioridazine (*Figures 39, 40 et 41*), l'étude du spectre de la coloration développée dans les conditions précédentes fait apparaître une double absorption d'intensité voisine et dont les λ max. sont respectivement de 518 et de 636 nm, traduisant la superposition d'une coloration rose à la coloration turquoise développée par le produit pur. D'autre part, l'étude chromatographique sur couche mince de cet extrait met en évidence plusieurs spots qui, révélés selon la technique générale, apparaissent de couleur verte ou rose.

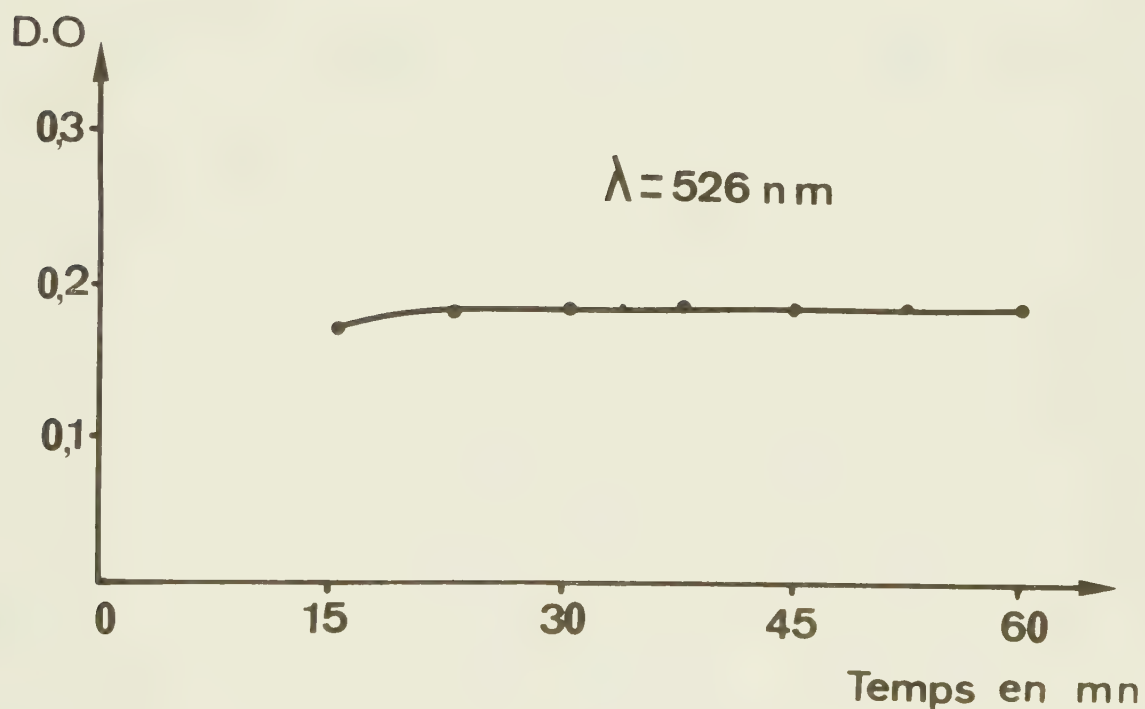
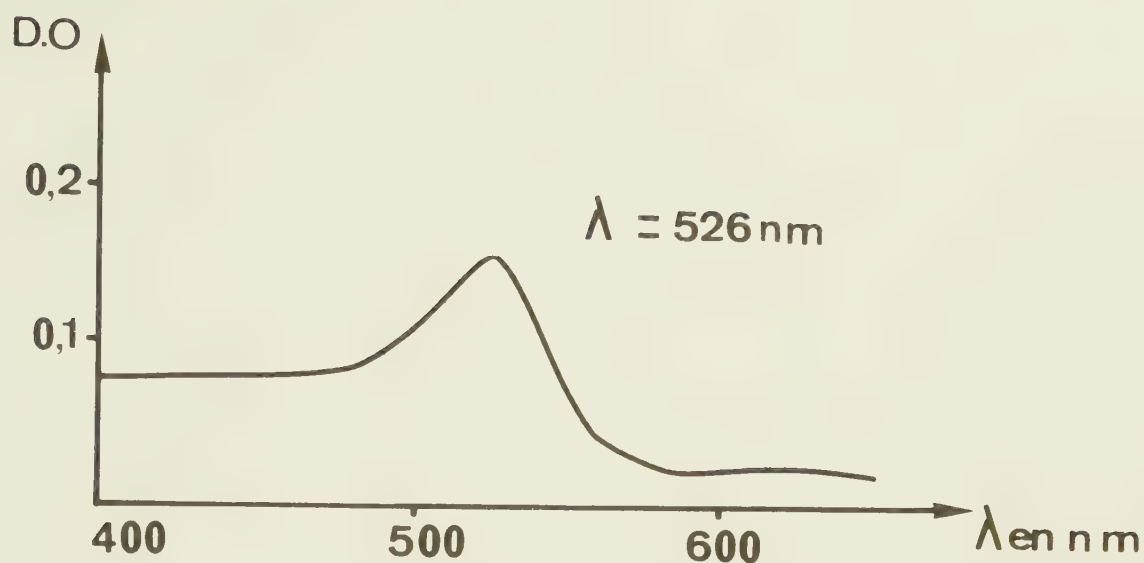
Une modification de la substitution du cycle aromatique peut, seule, être à l'origine de ce phénomène puisque la formation de sulfoxyde au niveau de l'atome de soufre du cycle hétéroatomique ne modifie pas le spectre de la coloration comme cela a été vérifié avec la périmétazine et avec le sulfoxyde de la chlorpromazine préparé selon la technique de SCHMALZ et BURGER (142) modifiée dans les conditions suivantes :

0,896 g de chlorhydrate de chlorpromazine sont dissous dans 12 ml d'éthanol à 85 %. La solution est additionnée de 0,7 ml d'eau oxygénée à 100 volumes et le mélange est porté à ébullition à reflux durant 25 heures.

Après refroidissement, la chromatographie sur couche mince montre que la transformation en sulfoxyde est totale. La solution hydroalcoolique est alors évaporée à sec et le résidu lavé deux fois par 10 ml d'éthanol absolu conduit à un produit blanc soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol absolu.

La pureté du produit obtenu a été vérifiée par chromatographie en couche mince; le spectre U.V. de la solution aqueuse enregistré entre 200 et 360 nm a été comparé au spectre de référence du sulfoxyde de la chlorpromazine donné par KOFOED et coll. (95).

Les valeurs ci-après permettent d'affirmer que le produit obtenu est le sulfoxyde de la chlorpromazine.



Malade absorbant 100 mg/24 h de Chlorpromazine

FIGURE 37 - SPECTRE D'ABSORPTION DE LA COLORATION DEVELOPPEE EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE PAR LES METABOLITES EXTRAITS PAR LE DICHLOROETHANE APRES ALCALINISATION DES URINES.
CINETIQUE DE LA COLORATION A LA λ max : 526 nm.

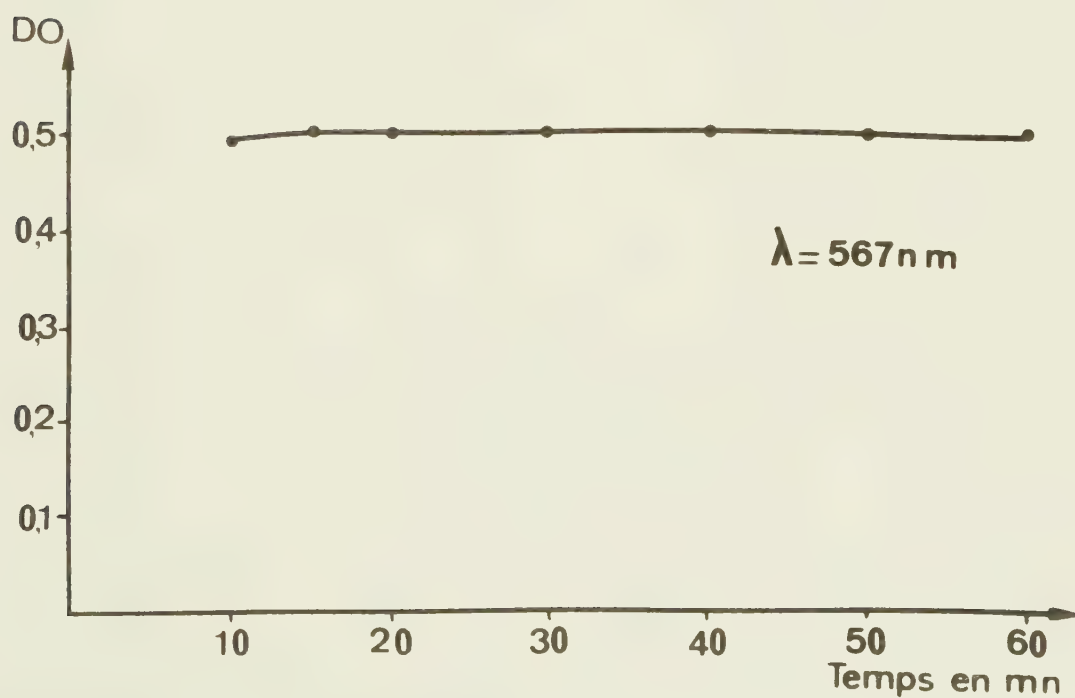
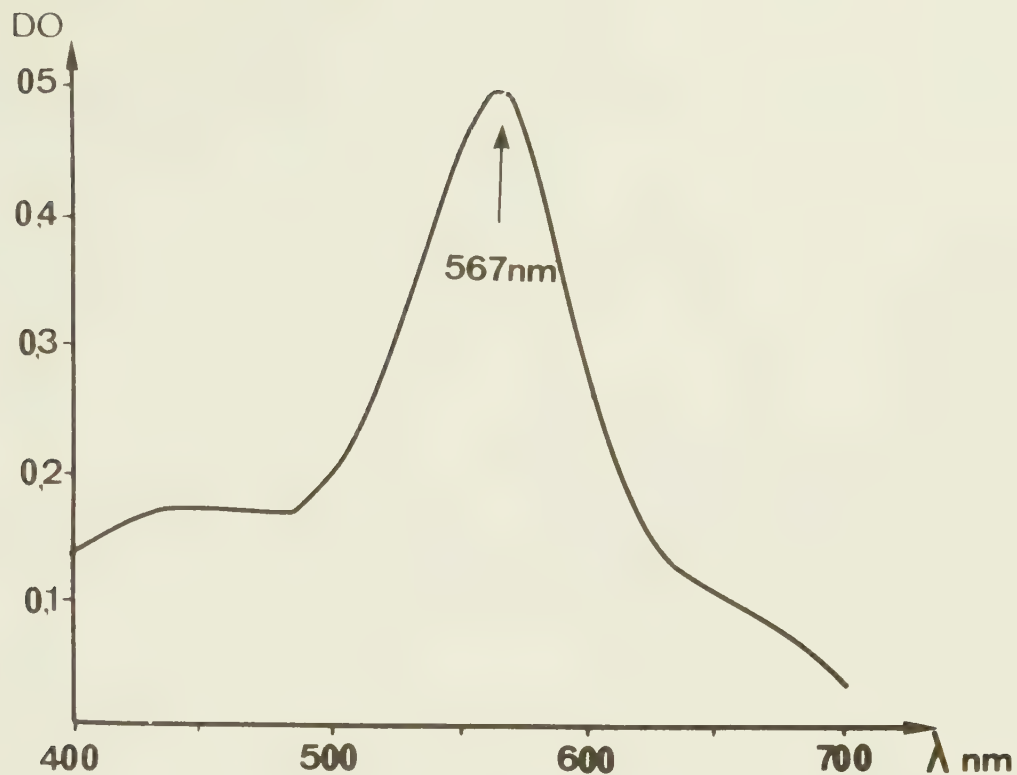


FIGURE 38 - SPECTRE D'ABSORPTION DE LA COLORATION DEVELOPPEE EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE PAR LES METABOLITES EXTRAITS PAR LE DICHLOROETHANE APRES ALCALINISATION DES URINES D'UN MALADE ABSORBANT 100 mg DE *LEVOME-PROMAZINE* PAR 24 HEURES.
CINETIQUE DE LA COLORATION A 567 nm.

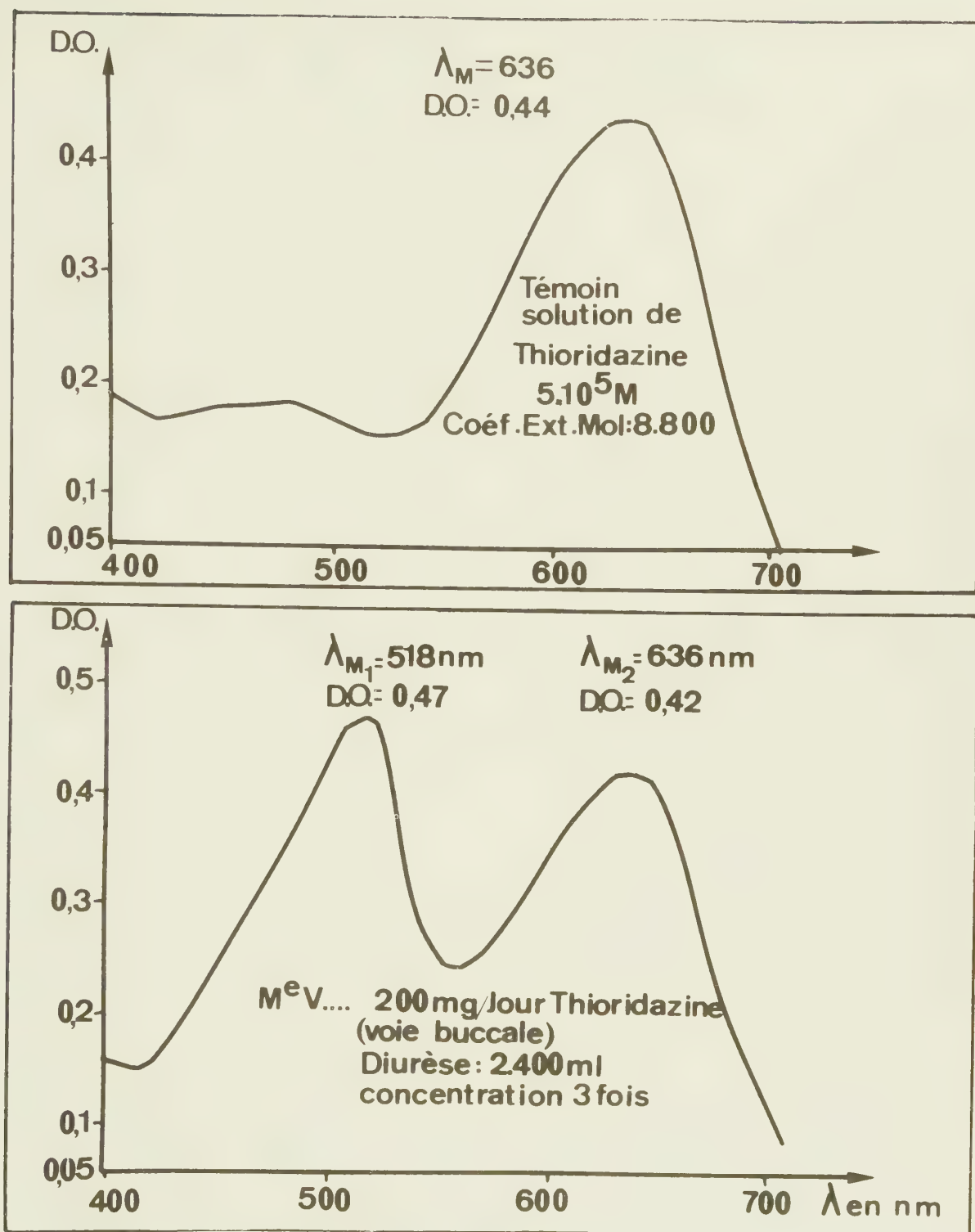
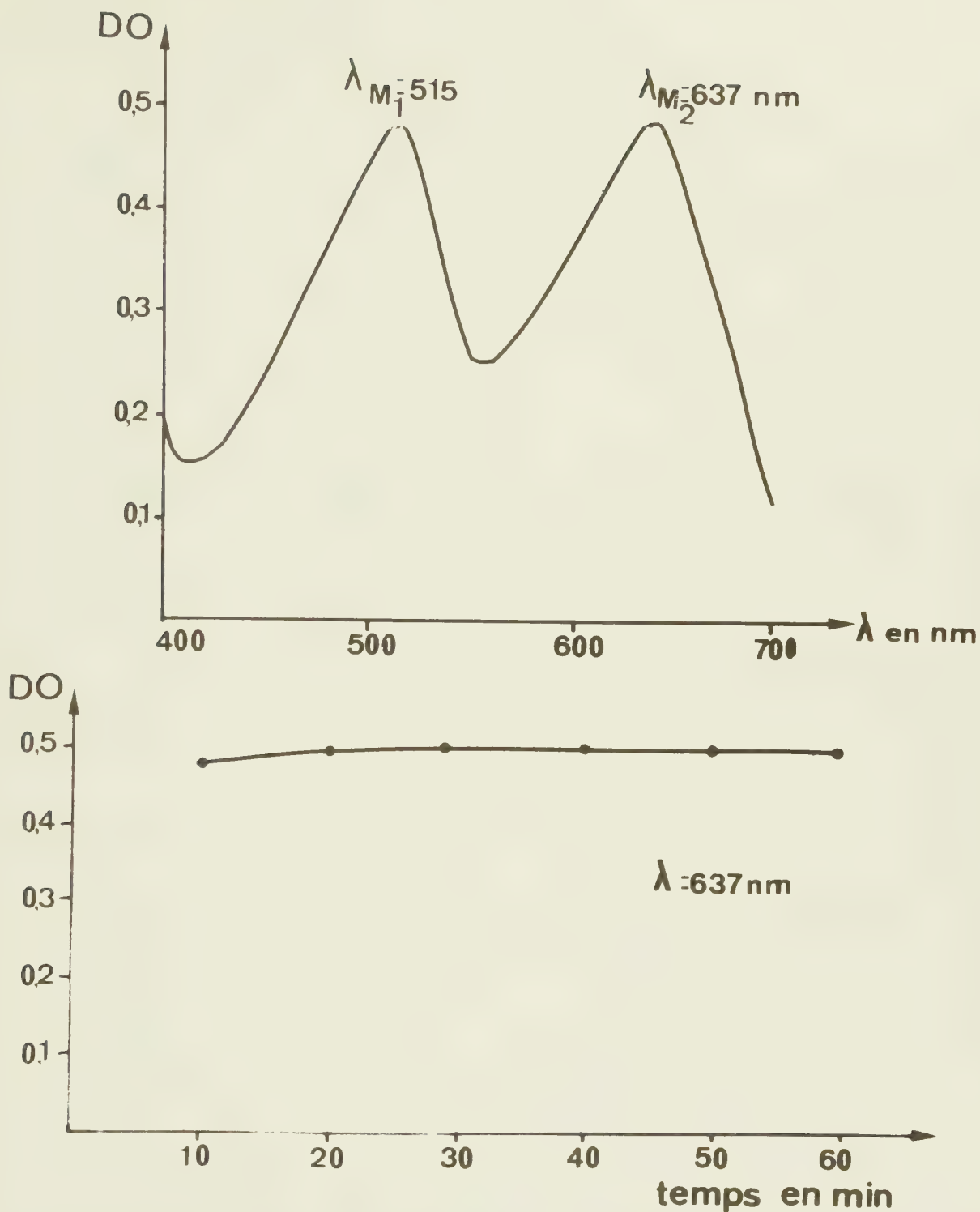
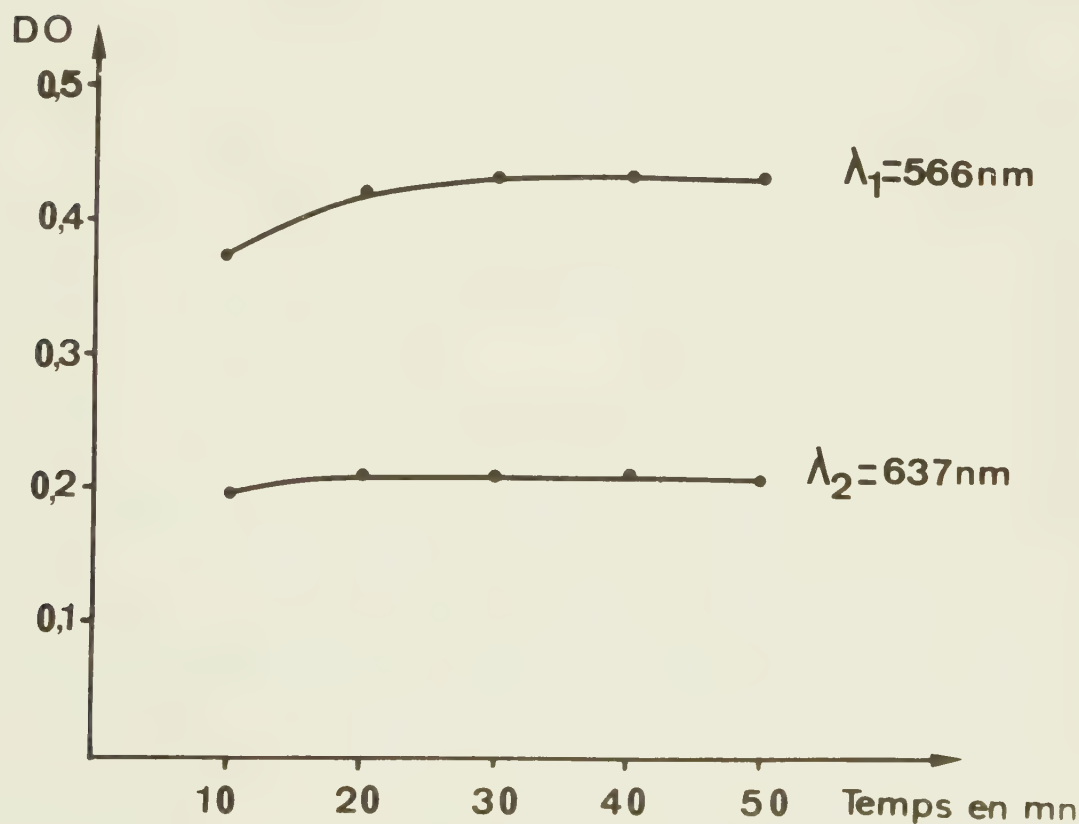
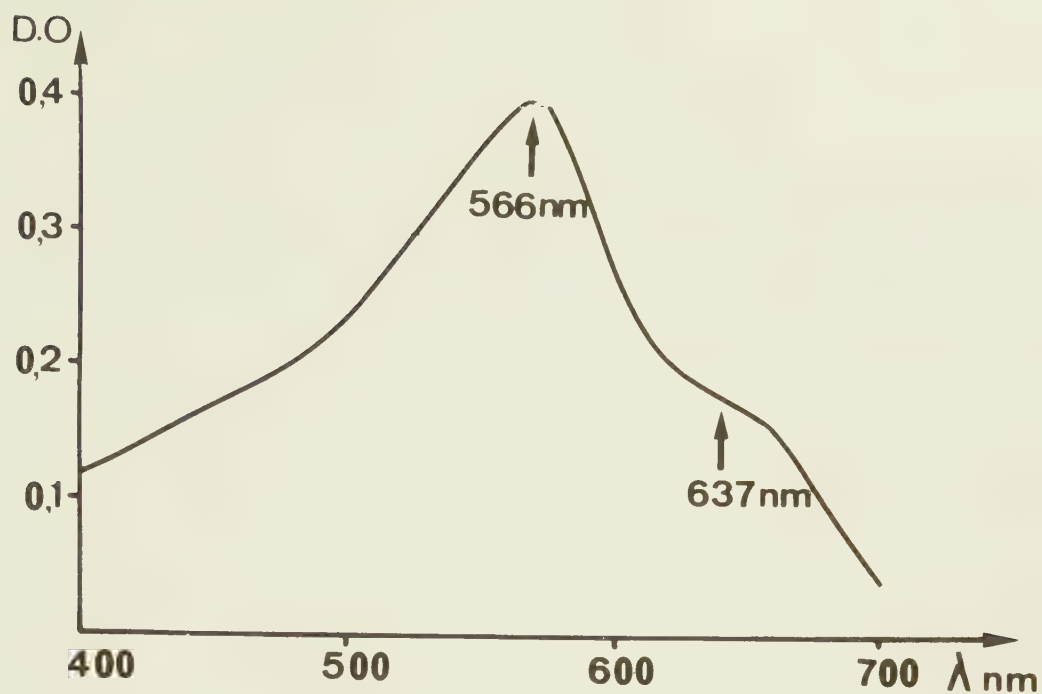


FIGURE 39 - SPECTRES D'ABSORPTION DE LA COLORATION DEVELOPPEE EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE PAR LA THIORIDAZINE ET PAR LES METABOLITES EXTRAITS PAR LE DICHLOROETHANE APRES ALCALINISATION DES URINES D'UN MALADE ABSORBANT 200 mg DE THIORIDAZINE PAR 24 HEURES.



Malade absorbant par 24h 300mg de Thioridazine

FIGURE 40 - SPECTRE D'ABSORPTION DE LA COLORATION DEVELOPPEE EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE PAR LES METABOLITES EXTRAITS PAR LE DICHLOROETHANE APRES ALCALINISATION DES URINES D'UN MALADE ABSORBANT 300 mg DE THIORIDAZINE PAR 24 HEURES.
CINETIQUE DE LA COLORATION A 637 nm.



Malade absorbant 100 mg / 24h de LEVOMEPRMAZINE
et 200mg / 24h de THIORIDAZINE

FIGURE 41 - SPECTRE D'ABSORPTION DE LA COLORATION DEVELOPPEE EN MILIEU PHOSPHORIQUE SOUS L'ACTION DE LA BENZOPARAQUINONE PAR LES METABOLITES EXTRAITS PAR LE DICHLOROETHANE APRES ALCALINISATION DES URINES D'UN MALADE ABSORBANT 100 mg DE LEVOMEPRMAZINE ET 200 mg DE THIORIDAZINE PAR 24 HEURES.
CINETIQUE DE LA COLORATION A 566 nm et 637 nm.

Spectre UV du sulfoxyde de la chlorpromazine selon KOFOED et coll.	Spectre UV enregistré pour le produit préparé (solution aqueuse)	Spectre UV chlorhydrate de chlorpromazine (solution aqueuse)
238 nm	239 nm	255 nm
274 nm	274 nm	310 nm
298 nm	298,5 nm	
340 nm	341,5 nm	

(L'absorption aux quatre maximums est d'autant moins intense que la valeur de la λ max. est plus élevée).

Le sulfoxyde développe avec l'acide phosphorique concentré, une coloration dont l'intensité est également augmentée par addition de benzoparaquinone. Les cinétiques du développement des colorations sont beaucoup plus lentes.

La longueur d'onde du maximum d'absorption est de 528 nm, comme il en est ainsi pour la chlorpromazine.

Pour la thioridazine, il faut donc admettre :

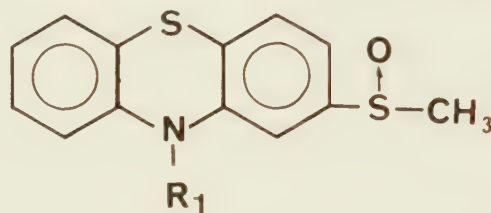
- que la coloration de λ max. 518 nm, n'est pas due à la formation du sulfoxyde sur l'atome de soufre intracyclique;
- que cette coloration ne peut être reliée à des hydroxylations des noyaux aromatiques, celles-ci conduisant à des dérivés phénoliques et à des produits de conjugaison qui ne sont pas extraits par un solvant très peu polaire comme le dichloroéthane et en milieu alcalin;

- que des modifications de la chaîne latérale greffée sur l'azote ne peuvent intervenir puisque la structure de cette chaîne n'a aucune influence majeure sur la λ max. de la coloration comme cela a été démontré précédemment.

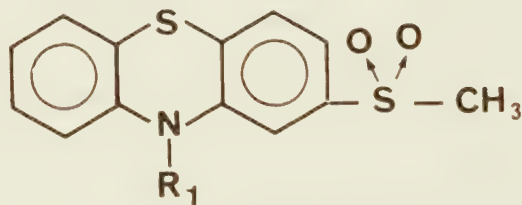
La seule explication à retenir est la formation d'un sulfoxyde sur le groupe substituant le carbone 3 du noyau phénothiazinique qui modifie la structure de ce substituant.

La confirmation de cette hypothèse semble être donnée par le fait que la MESORIDAZINE dont la structure comporte un sulfoxyde greffé sur le carbone 3 d'un des cycles aromatiques, conduit à une coloration dont la λ max. est de 519 nm.

La MESORIDAZINE est la dénomination commune du sulfoxyde (C₃) de la THIORIDAZINE et est commercialisée.



MESORIDAZINE



La SULFORIDAZINE
est la sulfone de la
thioridazine (λ max. 504 nm).
(produit commercialisé)

422 - ELIMINATION URINAIRE DES METABOLITES PHENOLIQUES ET CONJUGUES D'UN DERIVE DE LA PHENOTHIAZINE.

Nous avons tenté d'appliquer la méthode décrite par BOLT, FORREST et SERRA (15, 16) pour la détermination du taux urinaire de glucuroconjugués des métabolites de la chlorpromazine, mais en substituant au réactif préconisé (acide sulfurique à 50 % contenant 75 mcg de FeCl₃, 6 H₂O par ml) la réaction "acide phosphorique - benzoparaquinone".

Dans cette méthode, la chlorpromazine et ses métabolites peu polaires sont séparés des glucuroconjugués par passage sur résine Amberlite IRC 50 régénérée sous forme sodique par le tampon phosphate de SORENSEN de pH = 6. Après passage à travers une colonne de résine, l'urine est recueillie et la résine est lavée par le même volume de tampon phosphate. La réaction est développée à 0° C. directement sur l'effluent, (urine recueillie additionnée de la solution tampon de lavage), par addition du réactif sulfurique ferrique.

Nous avons utilisé les urines d'un malade absorbant 200 mg par jour de chlorpromazine (diurèse 0,800 litre). 90 ml d'urines ont été mis en contact avec 100 grammes de résine (poids de résine sèche) traités par le tampon phosphate. Le lavage de la résine a été conduit afin d'atteindre un volume total d'effluent de 180 ml.

L'effluent a été traité par les réactifs ci-dessous :

- R_1 = 5 ml d'effluent + 5 ml d'acide sulfurique pur (réaction dans la glace).
- R_2 = 5 ml d'effluent + 5 ml d'acide sulfurique à 50 % (réaction dans la glace).
- R_3 = 5 ml d'effluent + 5 ml d'acide sulfurique pur + 1 ml de solution 10^{-3} M de benzoparaquinone (réaction dans la glace).
- R_4 = 5 ml d'effluent + 5 ml d'acide sulfurique à 50 % + 1 ml de solution 10^{-3} M de benzoparaquinone (réaction dans la glace).
- R_5 = 5 ml d'effluent + 5 ml d'acide sulfurique à 50 % contenant 75 mcg Cl_3Fe , 6 H_2O par ml.
- R_6 = 5 ml d'effluent + 15 ml d'acide phosphorique d = 1,71.
- R_7 = 5 ml d'effluent + 15 ml d'acide phosphorique d = 1,71 + 1 ml de solution 10^{-3} M de benzoparaquinone.

Les solutions R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 sont 4 fois moins concentrées en glucuronoconjugués que l'urine de départ.

Les solutions R_6 et R_7 sont 8 fois moins concentrées en glucuroconjugués que l'urine utilisée.

Les spectres des colorations ont été enregistrés entre 400 et 700 nm et sont représentés sur la *Figure 42*.

Cette figure fait apparaître :

- a) une absorption de base très intense qui décroît vers les grandes longueurs d'onde;
- b) le développement d'une coloration nette avec deux réactifs :
 - R₅ réactif de BOLT et FORREST (15)
 - R₇ réactif "phosphorique - quinone"
- c) des longueurs d'onde des maximums d'absorption respectivement à 542 nm (réaction R₅) et 545 nm (réaction R₇);
- d) d'une absorption sensiblement identique avec ces deux réactifs, traduisant une sensibilité environ deux fois plus grande pour le réactif "phosphorique quinone", la concentration des métabolites qui en sont à l'origine étant deux fois plus faible.

Sur le plan quantitatif, nous n'avons pu exprimer les densités optiques mesurées sur les enregistrements car il est évident qu'aucun étalon ne peut convenir parfaitement pour une telle évaluation. D'ailleurs BOLT, FORREST et SERRA (15, 16) qui trouvent la λ max. de la coloration développée avec leur réactif à 550 nm, utilisent comme étalon la 7-méthoxychlorpromazine dont le maximum d'absorption est situé à 567 nm.

Nous avons seulement tenté d'évaluer la stabilité des deux colorations développées par l'étude de la variation de la hauteur du pic d'absorption (longueur de la verticale abaissée sur l'axe des abscisses entre le sommet du pic et son intersection avec la droite joignant pour chaque courbe les valeurs des D.O. à 450 et à 650 nm. Ces résultats sont représentés dans le *Tableau XV*.

Ce tableau montre une plus grande instabilité pour la coloration développée avec le réactif de FORREST et Coll. (15).

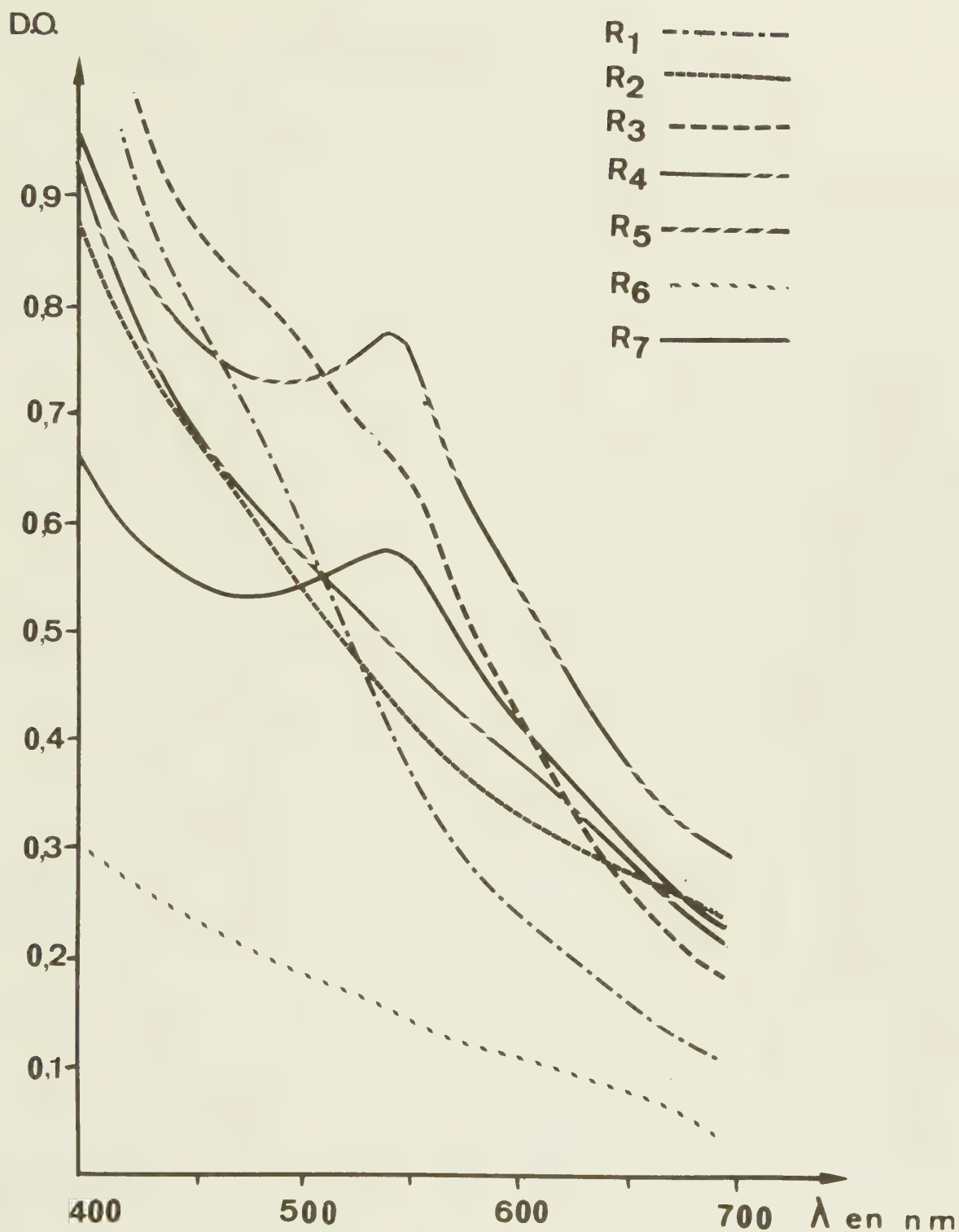


FIGURE 42 - URINES D'UN MALADE ABSORBANT 100 mg PAR 24 HEURES DE *CHLOR-PROMAZINE*.
SPECTRES D'ABSORPTION D'UNE SOLUTION AQUEUSE DE METABOLITES POLAIRES DE L'URINE [ISOLES PAR LA METHODE DE BOLT et FORREST (15)] SOUS L'ACTION DE DIVERS REACTIFS ACIDES.

REACTION H ₂ SO ₄ 25 % Fe ³⁺				REACTION "PHOSPHORIQUE QUINONE"		
	h	D0 450 nm	D0 650 nm	h	D0 450 nm	D0 650 nm
5 min.	35,5 mm	0,775	0,385	/	/	/
10 min.	33 mm	0,815	0,410	28 mm	0,555	0,315
15 min.	30,5 mm	0,825	0,410	27,5 mm	0,620	0,330
20 min.	27 mm	0,825	0,415	26,5 mm	0,570	0,310
25 min.	24 mm	0,850	0,425	25,5 mm	0,550	0,290
30 min.	21 mm	0,855	0,420	23 mm	0,550	0,290

TABEAU XV

COMPARAISON DE LA REACTION "PHOSPHORIQUE - QUINONE"
AVEC LA REACTION DE FORREST " $H_2SO_4 - Fe^{3+}$ "

h : hauteur de la perpendiculaire à l'axe des abscisses abaissée du maximum d'absorption au point d'intersection avec une ligne joignant les valeurs des D.O. à 450 et 650 nm. Etude en fonction du temps.

43 - CONCLUSIONS

La réaction "acide phosphorique - benzoparaquinone" peut être utilisée pour l'estimation quantitative des deux grands groupes de métabolites urinaires.

- a) Pour le produit absorbé et ses métabolites peu polaires, la réaction préconisée conduit, dans de très bonnes conditions de sensibilité et de stabilité, à des valeurs quantitatives qui permettent de calculer de façon très approchée la dose absorbée.
- b) En ce qui concerne la fraction des métabolites phénoliques et conjugués, la réaction phosphorique quinone conduit à des colorations plus sensibles et moins instables que celles développées par le réactif préconisé par FORREST et ses Coll. Néanmoins, la complexité de la fraction étudiée, son incidence sur la cinétique de la réaction, sur la λ max. de la coloration développée, ne permet pas une estimation quantitative même approchée, d'autant que les coefficients d'extinction moléculaire sont différents pour chacun des métabolites à l'origine de la coloration. De plus, la coloration développée sur l'urine privée des métabolites peu polaires se trouve mélangée aux chromogènes de l'urine, ceux-ci conduisant, en particulier avec les réactifs sulfuriques, à des densités optiques de base très importantes.

CHAPITRE V ..

APPLICATIONS EN TOXICOLOGIE HOSPITALIERE D'URGENCE
DE LA REACTION "ACIDE PHOSPHORIQUE - BENZOPARAQUINONE"

Les dérivés de la PHENOTHIAZINE occupent une place importante parmi les médicaments le plus fréquemment responsables d'intoxications aiguës volontaires chez les adolescents ou les adultes.

C'est ainsi qu'ils ont été retrouvés dans :

- 11,5 % des cas chez les malades admis en 1967 au Secteur de réanimation de la Clinique toxicologique de l'Hôpital Fernand Widal à Paris (67);
- 14 % des cas chez les malades hospitalisés en 1968 au Centre de Pathologie Toxique de l'Hôpital Edouard Herriot de Lyon (138);
- 22 % des cas chez les malades suspects d'intoxication admis en 1969 à l'Hôpital d'Instruction des Armées du Val-de-Grâce à Paris (109).

Cette dernière fréquence, plus forte que celles données par les deux Centres Anti-poisons précédents, peut être expliquée en partie par le fait que les dérivés de la phénothiazine ont été systématiquement recherchés dans les liquides biologiques au même titre que les "salicylés", les barbituriques, les dibenzoazépines, les benzodiazépines -1,4, les carbamates, le chlorprothixène et la gluthétimide.

L'application d'une telle méthode (107) — dont la liste des molécules qui sont l'objet de recherches analytiques pourra évoluer en fonction de la mise sur le marché de drogues nouvelles ou par la "vogue" de certains médicaments connus des personnes manifestant des intentions suicidaires — permet, lorsqu'une orientation ne peut être fournie au laboratoire, de déceler dans 30 à 40 % des cas une intoxication mixte (deux ou plusieurs toxiques).

51 - PROBLEMES POSES PAR L'ANALYSE TOXICOLOGIQUE

HOSPITALIERE D'URGENCE.

La Toxicologie hospitalière d'urgence est une discipline qui doit répondre à deux exigences contradictoires : la rapidité et la précision.

La première suppose une organisation du travail telle qu'aucune perte de temps ne vienne allonger le délai normal de réponse. La seconde est liée à l'utilisation de méthodes physico-chimiques ou chimiques permettant de mettre en évidence dans des milieux biologiques et d'une manière spécifique, soit une molécule médicamenteuse particulière, soit une structure chimique fondamentale dont dérivent les composés d'une série thérapeutique. Il en est ainsi pour les barbituriques, les dérivés "salicylés", les carbamates, les dérivés de la dibenzoazépine par exemple.

L'utilisation de réactifs "de groupe" présente des inconvénients mais aussi des avantages :

- ils ne sont pas toujours spécifiques et peuvent conduire à des réactions positives erronées. Néanmoins, l'obtention d'une réaction positive constitue une forte présomption de présence des dérivés recherchés;
- certains réactifs sont utilisables directement avec les urines ou les liquides gastriques. Avec les urines, la présence de certains éléments biologiques pathologiques peut conduire à des réactions douteuses sur lesquelles l'analyste assurant le service de garde hospitalier éprouvera des difficultés pour conclure;
- ils présentent l'avantage de pouvoir affirmer l'absence des dérivés recherchés lorsqu'ils conduisent à des réactions négatives. Une telle conclusion peut parfois être obtenue en très peu de temps, (moins d'une minute dans le cas des dérivés de la dibenzoazépine), ce qui favorise une marche dichotomique et permet d'éliminer éventuellement une cause d'interférence;

- enfin, lorsqu'une réaction positive a été confirmée par d'autres analyses dont la spécificité est démontrée, l'utilisation d'un réactif de groupe permet — parfois au lit du malade — de suivre la variation de concentration dans les urines ou d'indiquer la fin des lavages gastriques mis en oeuvre.

Il importe de plus, en Toxicologie Hospitalière d'Urgence, de trouver le meilleur compromis entre ce qui peut être utile et nécessaire pour le Médecin donc pour le malade et les grandes possibilités qu'offrent au Biologiste les méthodes modernes d'analyse.

Il ne faut pas oublier enfin que l'analyste a bien souvent à effectuer d'autres déterminations biochimiques pour le même malade, (étude des équilibres hydro-électrolytiques et acido-basiques, détermination de l'origine endogène d'un coma toxique), ou pour d'autres patients.

52 - REACTIFS DE "GROUPE".

Les propriétés chimiques très particulières que manifestent la phénothiazine et la plupart de ses dérivés à usage thérapeutique ont été largement utilisées pour la recherche de réactifs généraux permettant leur mise en évidence rapide dans les milieux biologiques. Il suffit en effet d'acidifier suffisamment le liquide analysé et de lui ajouter un "oxydant" pour voir se développer — en cas de présence de phénothiazines — une intense coloration.

Les urines et les liquides gastriques représentent les milieux biologiques analysés. En effet, rappelons que les dérivés de la phénothiazine disparaissent très rapidement du sang où il est difficile de les retrouver par les méthodes colorimétriques.

Ce fait est aggravé par :

- la faible concentration sanguine après absorption de ces médicaments par voie orale;
- le faible volume de sang dont l'analyste peut disposer pour ses recherches toxicologiques;

Auteurs et références	Réactif	Observations
BREWER et Coll. (18)	Solution aqueuse d'acide sulfurique à 10 % contenant 5 % de chlorure ferrique	
CAVANAUGH et ERVIN (26)	Solution d'acide phosphorique à 85 % pour les faibles doses potentialisation par des ions Fe^{3+}	Pour la chlorpromazine et estimation quantitative (développement de la coloration 8 à 12 h. à l'obscurité).
FORREST et FORREST (51)	Solution aqueuse d'acide sulfurique à 10 % et de chlorure ferrique à 5 %	Pour la chlorpromazine
FORREST et FORREST (52)	Chlorure ferrique avec acides nitrique ou perchlorique dilués.	Réactions positives avec de nombreux métabolites.
FORREST, FORREST et MASON (57)	Acide sulfurique à 10 % et chlorure ferrique à 5 %.	Pour la chlorpromazine, promazine et mepazine.
FORREST, FORREST et MASON (59)	Solution d'acide trichloracétique à 10 % contenant 0,001 M de nitrate mercurique.	- Fausse réaction positive avec les pigments biliaires. - Décrit pour les phénothiazines possédant dans leur chaîne latérale un noyau pipérazinique.

.../

Auteurs et références	Réactif	Observations
FORREST, FORREST et MASON (58)	Solution d'acide trichloracétique à 10 % et solution 0,001 M de nitrate d'uranyle dans HCl concentré.	- Pour la trifluopromazine - Fausse réaction positive avec les pigments biliaires.
FORREST, FORREST et MASON (60)	Solution d'acide sulfurique à 30 % : 98 Volumes; solution de chlorure ferrique à 5 % : 2 Volumes.	- Pour la thioridazine.
FORREST, FORREST et MASON (53)	Acide nitrique à 50 % : 50 Volumes. Acide perchlorique à 20 % : 45 Volumes. Solution de chlorure ferrique à 5 % : 5 Volumes.	Réactif "universel".
GROVER et VELLAR (72)	Acide nitrique pur.	Réaction en anneau signalée positive avec la chlorpromazine.
HEYMAN et Coll. (79)	Dépôt d'une goutte d'urine et d'une goutte d'acide sulfurique à 15 % sur un papier imprégné de Cl_3Fe et d'une résine acide sulfonique.	
HEYMAN et Coll (80)	Dépôt d'une goutte d'urine et d'une goutte d'eau oxygénée; papier imprégné de nitrate mercurique ou de nitrate d'uranyle.	
LIN et REYNOLDS (105)	Complément à la réaction d'HEYMAN et Coll. (80). Papier Whatman 3 MM imprégné de chlorure ferrique à 2 %.	

.../

TABLEAU XVI (suite)

Auteurs et références	Réactif	Observations
NEVE (119)	Acide nitrique à 27 % contenant 2,5 % de nitrite de sodium.	Réaction très fugace.
NELLHAUS (116)	Bandelettes réactives "Phénistix".	Réactions positives avec les salicylés.
NELLHAUS (117)	Solution aqueuse à 10 % de chlorure ferrique.	
VESELL (150)	Solution de chlorure ferrique à 10 % dans l'acide chlorhydrique à 1 %.	Réaction négative, avec la prochlorpérazine non métabolisée.
B - REACTIONS EFFECTUEES APRES EXTRACTION		
Auteurs et références	Mode d'extraction	Réactif utilisé
DEMORAS, DREVON et PARADO (36)	Extraction par le n-butanol (superposition du réactif à l'extraire butanolique)	Réactif universel FPN de FORREST.
NOIRFALISE et LECOMTE (123)	Extraction par l'éther éthylique après alcalinisation.	Spot test avec le réactif FPN.
LAFARGUE (99)	Extraction par l'éther de pétrole en milieu alcalin.	Action du nitrite de sodium en milieu chlorhydrique concentré.

- l'impossibilité d'utiliser les réactifs de groupe sans effectuer une extraction préalable en milieu alcalin alors que la recherche — voire le dosage — d'autres toxiques par exemple nécessite déjà une extraction en milieu acide ou neutre.

Les études concernant les réactifs de "groupe" ont donc essentiellement été effectuées pour les urines, l'application aux liquides d'aspiration ou de lavage gastrique étant simple puisqu'ils contiennent parfois les mêmes produits non métabolisés.

Les travaux entrepris voici une douzaine d'années ont été dominés par les études de Fred et d'Irène FORREST (61) qui ont décrit toute une série de réactifs, chacun d'entre eux adapté à une molécule particulière au fur et à mesure de la commercialisation de ces dérivés. Ils sont rassemblés dans le *Tableau XVI*.

C'est en 1960 que MM. FORREST ont préconisé l'utilisation d'un réactif dit "universel" permettant de caractériser rapidement dans les urines les dérivés de la phénothiazine. Rappelons que la réaction de FORREST est pratiquée en mélangeant à un volume d'urine le même volume de réactif (*). La lecture de la réaction doit s'effectuer avant dix secondes et on ne doit pas tenir compte des colorations qui peuvent apparaître après ce délai. L'intensité de la coloration permet de façon très approximative, de connaître la quantité de phénothiazines absorbée (pour une diurèse normale et dans la mesure où le dérivé de la phénothiazine est identifié).

Cette réaction a été largement utilisée et le reste encore malgré les imperfections qui, peu à peu, se sont précisées. En effet, de nombreux auteurs — parmi lesquels I. et F. FORREST — ont signalé les réactions erronées qui pouvaient être données par ce réactif dans les conditions définies de son emploi.

521 - En ce qui concerne les "fausses réactions négatives", elles ne relèvent en général, comme l'ont signalé I. et F. FORREST (54) que de l'absorption de très faibles doses de dérivés de la phénothiazine conjuguée à la dilution importante des produits d'élimination dans de grands volumes d'urine. De telles conditions ne semblent pas avoir d'incidence dans le domaine de la Toxicologie d'Urgence.

(*) Formule du réactif FPN (réactif universel de FORREST): cf. *TABLEAU XVI*
 HNO_3 (d = 1,38) à 50 p. cent 50 volumes
 HClO_4 (d = 1,67) à 20 p. cent 45 volumes
 FeCl_3 Solution aqueuse à 5 p. cent 5 volumes

Mais nous devons ajouter les deux molécules commercialisées le diméthoxanate et la propyromazine qui ne donnent aucune réaction colorée avec les réactifs conduisant habituellement à la formation de radicaux cations colorés. Enfin, l'oxoméazine, dont le coefficient d'extinction moléculaire pour la réaction "acide phosphorique-benzoparaquinone" est voisin de 130, conduit à des colorations très faibles inutilisables pour une détection sensible et pour une détermination quantitative. Les incidences de telles réactions négatives sont très réduites en toxicologie d'urgence, ces trois molécules entrant dans des médicaments qui ne sont pas utilisés pour des propriétés psychotropes et sur une grande échelle. Il reste à ne pas oublier les intoxications accidentelles chez les enfants qui peuvent avoir toutes les causes possibles.

522 - Le problème des "fausses réactions positives" se pose avec plus d'acuité. Les causes en sont diverses et parfois inconnues. FORREST et FORREST (56), NOIRFALISE et LECOMTE (123) ont rassemblé les principales sources d'erreurs conduisant à de fausses réactions positives avec les urines :

- de malades ayant absorbé de l'acide acétyl-salicylique ou recevant du P.A.S. Il s'agit là d'une donnée certaine et importante en toxicologie d'urgence, les intoxications par les "salicylés" n'étant pas exceptionnelles;

- contenant des quantités importantes de pigments biliaires d'indican, d'acide phényl pyruvique, d'oestrogènes, voire de substances "X" non identifiées, (en l'absence de toute absorption médicamenteuse), et signalées par divers chercheurs.

Pour tenter d'éliminer ces interférences, quelques auteurs ont préconisé l'EXTRACTION d'une fraction des métabolites urinaires des phénothiazines. DE MORAS et ses Collaborateurs (36) effectuent la réaction de FORREST sur un extrait butanolique des urines. NOIRFALISE et LECOMTE (123) réalisent une extraction par l'éther en milieu alcalin puis pratiquent un spot test utilisant le réactif de FORREST. LAFARGUE (99) a préconisé plus récemment l'extraction par l'éther de pétrole en milieu alcalin d'un certain nombre de métabolites, suivie du développement de la coloration par

le nitrite de sodium très dilué en milieu fortement chlorhydrique. Ces réactions conduisent à des colorations avec les dérivés de la phénothiazine mais aussi, selon les concentrations d'oxydant, avec les dibenzo (b, f) azépines et leurs principaux métabolites.

523 - De l'ensemble des données précédentes, il ressort :

- a) que l'obtention d'une réaction négative avec le réactif de FORREST permet d'affirmer l'absence de dérivés de la phénothiazine.
- b) l'observation d'une réaction douteuse, (ce qui est fréquent avec de nombreuses urines), ou positive, ne permet pas d'affirmer la présence de phénothiazines psychotropes.
- c) l'extraction par un solvant organique en milieu alcalin permet de séparer les dérivés de la phénothiazine de la plupart des substances capables de conduire à des réactions faussement positives.

Il est certain que cette extraction réalisée en général par un solvant peu polaire, n'intéresse qu'un nombre limité de métabolites, fait souligné par FORREST et FORREST (54) à propos de la technique préconisée par NOIRFALISE et LECOMTE.

Mais plusieurs arguments plaident en faveur de l'utilisation systématique de l'extraction en toxicologie d'urgence :

- a) La mise récente sur le marché d'un dérivé phénothiazinique non psychotrope, utilisé à des doses de plusieurs centaines de milligrammes par jour pour des propriétés anti-inflammatoires et antialgiques, peut conduire à une interprétation erronée d'une réaction positive très intense qui serait observée par la réaction de FORREST pratiquée directement sur l'urine de malades absorbant un tel médicament. Or, il s'agit de l'acide métiiazinique (acide méthyl-10 phénothiazine acétique-3) ou 16.091 RP (SORIPALND) qui porte donc un substituant carboxylique sur l'un des noyaux aromatiques. L'extraction en milieu alcalin ne permet pas son passage dans la phase organique (ni celui de ses métabolites)

ainsi que nous l'avons vérifié tant sur le produit pur ajouté à l'urine qu'à partir d'urines de malades absorbant ce médicament.

b) 20 pour cent environ des métabolites des phénothiazines peuvent être extraits par un solvant peu polaire tel que le dichloroéthane ou le dichlorométhane en milieu alcalin.

Il s'agit essentiellement des formes peu métabolisées à l'exclusion en particulier des dérivés hydroxylés et de leurs produits de conjugaison.

Il est donc normal de penser qu'une telle extraction risque de diminuer considérablement la sensibilité de la détection.

Mais si on prend la précaution de réextraire ces métabolites de la phase organique par un volume réduit de solution fortement acide avant de faire agir la molécule oxydante, la sensibilité de détection est maintenue.

c) Cette dernière modalité technique est plus rapide que l'évaporation du solvant. Enfin, s'il est indiscutable que l'extraction est plus longue que la simple réaction de FORREST, ce fait ne doit pas être exagéré puisqu'en 15 minutes la réaction colorée peut être développée.

D'autre part, la même solution organique peut être utilisée ainsi que nous l'avons montré avec LEMONTEY et LAFARGUE (103, 108) pour la détection d'autres médicaments psychotropes tels que les dibenzo - (b, f) - azépines, les déhydrodibenzoazépines, la dibenzodiazépine, la dibenzothiazépine, etc...

d) La réaction est spécifique. Seul doit être signalé le chlorprothixène (TARACTANND) qui conduit à forte concentration à une coloration orangée mais dont la longueur d'onde du maximum d'absorption (492 nm) se situe à l'extérieur de la zone des λ max. des colorations développées par les dérivés de la phénothiazine dans les conditions que nous décrivons ci-dessous. De plus, en milieu très acide et en l'absence de tout oxydant, le chlorprothixène conduit à une intense fluorescence ocre-saumon en lumière de WOOD.

53 - TECHNIQUE UTILISANT LA REACTION "ACIDE PHOSPHORIQUE - QUINONE".

531 - Principe de la technique proposée.

En application des résultats analytiques décrits dans les chapitres précédents, la technique de recherche des dérivés de la phénothiazine dans les urines ou les liquides gastriques comprendra les étapes suivantes :

a) Alcalinisation, soit :

- par NaOH (concentration finale 2,0 N) pour les liquides gastriques et les urines;
- par une solution tampon borate de sodium à pH 11 additionnée d'un mouillant telle qu'elle a été préconisée par BOURDON et NICAISE (17) pour l'extraction des métabolites urinaires peu polaires des dibenzo (b, f) azépines;
- par une solution de carbonate de sodium à 20 g % préconisée par CASTAGNOU et ARTIGES (25) pour l'extraction par l'éther des dibenzo-azépines.

b) Extraction par un solvant peu polaire (dichloroéthane par exemple), cette extraction pouvant se faire volume à volume ou avec un volume plus réduit de solvant ce qui permet une première concentration dans la phase organique des principaux métabolites extraits.

c) Mise en solution et concentration des métabolites extraits dans une phase phosphorique par simple agitation de la solution organique contre un volume réduit de solution aqueuse acide.

d) Développement des colorations par l'addition d'une solution de benzoparaquinone dans le dichloroéthane.

532 - Mode opératoire.

Dans une ampoule à décantation ou dans un erlenmeyer de 100 ml, placer 40 ml d'urines ou de liquide gastrique, 10 ml de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 40 g pour 100 ml et 30 ml de dichloroéthane.

Agiter vigoureusement durant une minute.

Laisser décanter et renouveler l'agitation.

Centrifuger. Eliminer la phase aqueuse surnageante et laver une fois la solution organique avec 25 ml d'eau. Après centrifugation et élimination, (à l'aide d'une trompe à vide), de la phase aqueuse surnageante et du précipité plus ou moins abondant à l'interface des deux liquides, agiter la phase organique avec deux grammes de sulfate de sodium anhydre.

Prélever 10 ml de la solution organique et ajouter 1 à 2 ml de solution aqueuse d'acide phosphorique ainsi préparée :

{ acide phosphorique	d = 1,71	: 75 ml
{ eau distillée		: 25 ml

Agiter vigoureusement durant une minute.

Des colorations dues aux dérivés de la phénothiazine et à leurs métabolites peuvent éventuellement apparaître à ce stade. De plus, l'apparition d'une intense fluorescence ocre-saumon par examen à 366 nm est en faveur de la présence d'un dérivé du thioxanthène (chlorprothixène - TARACTANND).

Ajouter alors 1 ml d'une solution de benzoparaquinone dans le dichloroéthane à 100 mg par litre ($\simeq 10^{-3}$ M) et agiter durant une minute.

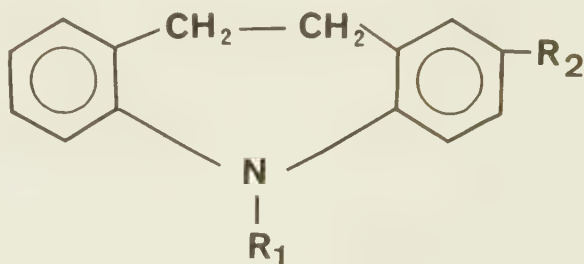
La présence de dérivés de la phénothiazine ou de leurs métabolites (à l'exclusion de l'acide méti~~az~~inique) conduit au développement (ou à l'intensification) des colorations dont les longueurs d'onde des maxima d'absorption se situent entre 497 et 640 nm.

54 - RESULTATS

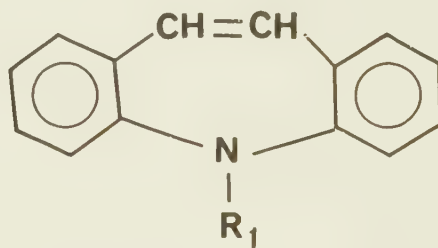
Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, les réactions colorées développées dans les conditions précédentes sont spécifiques (en dehors de la présence de fortes concentrations de chlorprothixène).

Les produits médicamenteux suivants, (présentant une structure voisine des dérivés de la phénothiazine, et les extraits urinaires des malades absorbant ces médicaments ont été testés dans les mêmes conditions techniques :

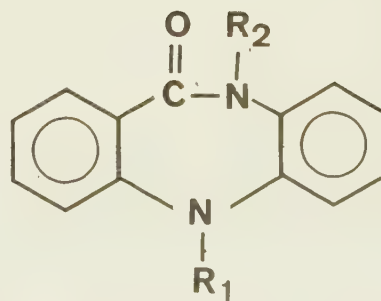
- a) dibenzo-(b, f) azépines
(type imipramine)



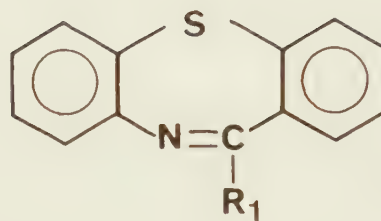
- b) déhydro-10,11 dibenzo (b, f) azépines
(type carbamazépine et opipramol)



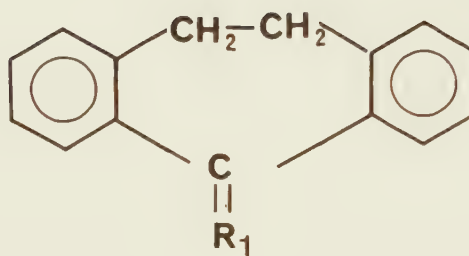
- c) dibenzodiazépines
(type dibenzépépine)



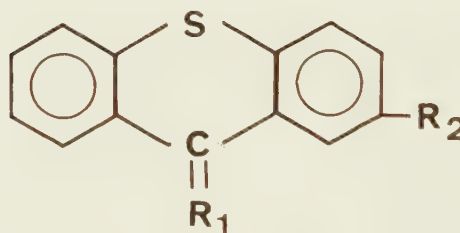
- d) dibenzothiazépines
(type clotiapine)



- e) dibenzocycloheptadiènes
(type nortryptiline)



- f) thioxanthènes
(type chlorprothixène)



Nous n'avons jamais observé de colorations parasites en dehors de celle déjà citée pour le chlorprothixène. Signalons que le second dérivé de la série des thioxanthènes utilisé en thérapeutique, le piméthixène, ne conduit dans les mêmes conditions à aucune coloration.

CONCLUSIONS

Le pouvoir "donneur d'électrons" exceptionnel de la phénothiazine base et de la plupart de ses dérivés à usage thérapeutique nous a conduits à former des espèces moléculaires transitoires : complexes par transfert de charge (Donneur $^+$ - Accepteur $^-$), radicaux cations (phénothiazine N^+) et à envisager pour certaines d'entre elles des applications analytiques.

1°) La formation des complexes par transfert de charge a été obtenue par interaction de la phénothiazine et de plusieurs de ses dérivés avec des partenaires de forte affinité électronique de nature quinonique, tels que la benzoparaquinone et la toluquinone, en faisant varier — par abaissement de la température — la constante diélectrique de leur solution hydro-alcoolique. La réversibilité parfaite de ces interactions a été mise en évidence, ce qui permet d'exclure la participation d'un processus d'oxydo-réduction définitif.

2°) Des espèces radicalaires (radicaux cations) ont été obtenues à partir de la phénothiazine base et des dérivés de la phénothiazine par action de dérivés quinoniques dans des solutions aqueuses fortement acides.

La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique a permis de mettre en évidence les radicaux cations dont la formation coïncide avec l'apparition d'intenses colorations.

3°) Les colorations développées en milieu très acide sous l'influence de dérivés quinoniques, en particulier de la benzoparaquinone, présentent une stabilité qualitative qui permet des applications analytiques.

Le spectre d'absorption des colorations dépend essentiellement de la nature du substituant en position 3 sur l'un des cycles aromatiques accolés au cycle hétéroatomique du noyau phénothiazinique. Les

longueurs d'onde des maxima d'absorption pour plus de 40 bases phénothiaziniques utilisées en thérapeutique ont été mesurées : leurs valeurs varient de 497 à 636 nm.

4°) La réaction à la benzoparaquinone en milieu fortement acide permet

- a) de révéler les dérivés de la phénothiazine sur des chromatogrammes avec une grande sensibilité (100 nanogrammes pour la chlorpromazine) ;
- b) d'aider à l'identification d'un dérivé phénothiazinique (quelle que soit la nature de la salification), par la mesure de la longueur d'onde du maximum d'absorption de la coloration.

Elle nous a permis en outre d'introduire une simplification dans l'identification, par chromatographie, d'un dérivé de la phénothiazine.

Dans le cadre de cette étude, nous avons déterminé les valeurs des Rf relatifs au Rf de la chlorpromazine pour chaque dérivé et dans trois systèmes solvants. Nous avons montré que le Rf d'un dérivé était essentiellement dépendant du substituant sur l'azote du cycle hétéroatomique, et que pour des dérivés présentant cette chaîne latérale identique, la nature du substituant en position 3 modulait la valeur de ce Rf.

5°) En solution pure, les dérivés de la phénothiazine peuvent être dosés en utilisant les colorations développées sous l'influence de la benzoparaquinone dans une solution fortement acide.

6°) La réaction à la benzoparaquinone peut être utilisée pour la détermination quantitative des dérivés de la phénothiazine et d'une fraction de leurs métabolites de l'urine. La technique de dosage est décrite. Les résultats sont comparés avec ceux obtenus par d'autres méthodes.

7°) *En toxicologie hospitalière d'urgence, la réaction à la benzoparaquinone permet d'apporter un élément de caractérisation d'un dérivé de la phénothiazine (et de ses métabolites) présents dans les urines.

La réaction est également applicable à des liquides d'aspiration ou de lavage gastriques. Elle doit être effectuée sur les formes peu polaires (extractibles par le dichloroéthane en milieu alcalin), c'est-à-dire n'ayant pas subi notamment une hydroxylation sur le noyau phénothiazinique.

Une technique de recherche des dérivés de la phénothiazine dans les urines ou autres liquides biologiques est décrite. Elle conduit à une identification quasi spécifique de ces dérivés.

Les dérivés quinoniques (en particulier, la benzoparaquinone), qui sont capables à la fois d'entrer en interaction avec la phénothiazine base et ses dérivés pour former des complexes par transfert de charge et d'engendrer des espèces radicalaires, représentent donc des molécules oxydantes qui permettent de saisir les étapes intermédiaires s'inscrivant en tête du défilé des réactions d'oxydoréduction et d'oxygénation dont les phénothiazines sont l'objet sous l'action des réactifs jusqu'alors décrits et qui sont retrouvées dans les voies métaboliques envisagées pour ces molécules médicamenteuses.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALLGEN (L.G.), JONSSON (B.), RAPPE (A.), DAHLBOM (R.)
On the urinary elimination of methoxypromazine in man.
Experienta, 1959, XV, N° 8, 318-319.

- 2 - AUTERHOFF (H.)
Die analytik einiger synthetischer antihistamine.
Archiv. der Pharmazie, 1952, 285, 14-19.

- 3 - BAYFIELD (R.F.), COLE (E.R.)
The colorimetric estimation of phenothiazine.
Anal. Chim. Acta, 1966, 34, 193-200.

- 4 - BECKETT (A.H.), BEAVEN (M.A.), ROBINSON (A.E.)
International conference on action, mechanism and metabolism of psychoactive drugs derived from phenothiazine and structurally related compounds.: Metabolism of Chlorpromazine.
Paris, 1962. Psych. Pharm. Serv. Cent. Bull., 1962, 2, N°5, 42-46.

- 5 - BEHN (W.), FRAHM (M.), FRETWURST (E.)
Über den diaplacentaren Übergang von Phenothiazinderivaten.
Klin. Wochenschr., 1956, 34, 872.

- 6 - BENESI (H.A.), HILDEBRAND (J.H.)
A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons.
Journ. Amer. Chem. Soc., 1949, 71, 2703-2707.

- 7 - BERNTHSEN (A.)
Zür Kenntniss des Methylenblau und verwandter Farbstoffe.
Ber. Dtsch. Chem. Gesell., 1883, 16, 2896-2904.

- 8 BERNTHSEN (A.)
Zür Kenntniss des Methylenblau und verwandter Farbstoffe.
Zür constitution des Lauth'schen Violett und des Methylenblau.
 Ber. Deutsch. Chem. Gesell., 1884, 17, 2854-2857.

- 9 BERTI (T.), CIMA (L.)
Distribuzione degli aminoderivati fenotiazinici nell' organismo animale. I - Recherche nel topo con la clorpromazina e la dietazina.
 Archiv. Intern. Pharmac. Ther., 1954, 98, 452-458.

- 10 BIELSKI (B.H.), FREED (S.)
Enzymatic reactions below 0°C. of alpha chymotrypsin in methanol-water solvents.
 Biochim. Bioph. Acta, 1964, 89, 314-323.

- 11 BILLON (J.P.)
Propriétés électrochimiques de la phénothiazine.
Note de laboratoire.
 Bull. Soc. Chim. France, 1960, 1784-1785.

- 12 BILLON (J.P.)
Etude électrochimique des propriétés oxydo-réductrices des phénothiazines dans l'acétonitrile.
 Ann. Chim., 1962, 7, 3-4, 183-206.

- 13 BILLON (J.P.), CAUQUIS (G.), COMBRISSE (J.)
Résonance paramagnétique électronique de radicaux obtenus par oxydation ou réduction électrochimique de quelques dérivés de la phénothiazine en solution dans l'acétonitrile. 1° Partie: Introduction et résultats expérimentaux.
 Journ. Chim. Phys., 1964, 61, 374-381.

- 14 BILLON (J.P.), CAUQUIS (G.), COMBRISSE (J.), LI (A.M.)
Mise en évidence par résonance paramagnétique électronique du radical libre obtenu par oxydation électrochimique de la phénothiazine. Note de laboratoire.
 Bull. Soc. Chim. France, 1960, 2062.

- 15 - BOLT (A.G.), FORREST (I.S.)
Assay of chlorpromazine glucuronides in human urine.
Journ. Pharm. Sc., 1967, 56, 1533-1534.
- 16 - BOLT (A.G.), FORREST (I.S.), SERRA (M.T.)
Quantitative studies of urinary excretion of chlorpromazine metabolites in chronically - dosed psychiatric patients.
Journ. Pharm. Sc., 1965, 55, N° 11, 1205-1208.
- 17 - BOURDON (R.), NICAISE (A.M.)
Sur la mise en évidence et le dosage dans les liquides biologiques de quelques 5-H dibenz (b, f) azépines.
Ann. Biol. Clin., 1969, 27, N° 1-2, 93-103.
- 18 - BREWER (W.R.), PICCHIONI (A.L.), CHIN (L.)
Neurotoxic effects accompanying poisoning from the phenothiazine tranquilizers.
Arizona Medicine, 1959, 16, 646-647.
- 19 - BRIGNON (J.J.)
Méthode de dosage rapide du Largactil dans le sérum humain.
Bull. Soc. Pharm. Nancy, 1955, N° 24, 13-15.
- 20 - BRIGNON (J.J.)
Dosage du Largactil dans les urines.
Bull. Soc. Pharm. Nancy, 1955, N° 25, 17-19.
- 21 - CALO (A.), MARIANI (A.), MARIANI - MARELLI (O.)
Ionophoretic separation of chlorpromazine and its colorimetric determination.
Svensk Farmaceutisk Tidskrift, 1956, 35, 842-847.
- 22 - CALO (A.), MARIANI (A.), MARIANI - MARELLI (O.)
Separazione jonoforetica della cloropromazina e sua determinazione colorimetrica.
Estratto dai rendiconti dell'istituto superiore di sanità,
1957, 20, 802-810.

- 23 - CALO (A.), MARIANI (A.), MARIANI - MARELLI (O.)
Separazione di qualche derivato fenotiazinico.
Estratto dai rendiconti dell'istituto superiore di sanita,
1957, 20, 987-992.
- 24 - CALO (A.), MARIANI (A.), MARIANI - MARELLI (O.)
Séparation de quelques dérivés phénothiaziniques.
Pharmaceutica Acta Helvetiae, 1958, 33, 126-131.
- 25 - CASTAGNOU (M.R.), ARTIGES (A.)
Contribution à l'identification et au dosage de la dibenzoazépine dans les liquides biologiques.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1968, 107, 73-78.
- 26 - CAVANAUGH (D.J.), ERVIN (F.R.)
Detection of chlorpromazine in body fluids.
Amer. Journ. Psych., 1957, 114, 171.
- 27 - CAVATORTA (L.)
Assay of promazine and its separation from chlorpromazine and promethazine.
Journ. Pharm. Pharmacol., 1959, 11, 49-53.
- 28 - CLARKE (V.), COLE (E.R.)
A colour reaction for psychotropic drugs on thin layer chromatograms.
Journ. Chrom., 1966, 24, 259-261.
- 29 - COCCIA (P.F.), WESTERFELD (W.W.)
The metabolism of chlorpromazine by liver microsomal enzyme systems.
Journ. Pharm. Exp. Ther., 1967, 157, N° 2, 446-458.
- 30 - COCHIN (J.), DALY (J.W.)
The use of thin-layer chromatography for the analysis of drugs. Identification and isolation of phenothiazine tranquilizers and of antihistaminics in body fluids and tissues.
Journ. Pharmacol. Exper. Ther., 1963, 139, 160-165.

- 31 - CORDIER (P.), DUPONTREUE (J.)
Réactions de la phénothiazine et de ses dérivés N-substitués.
Bull. Soc. Pharm. Strasbourg, 1960, 3, N° 2, 79-84.
- 32 - CUPPLES (H.L.)
Colorimetric determination of phenothiazine.
Indus. Eng. Chem. Anal. Ed. 1942, 14, 53.
- 33 - DEBEY (M.P.), TRAVERS (F.), BANERJEE (R.), DOUZOU (P.)
Physical-chemical properties of solvents for biopolymers at low temperature. I - Density, viscosity and dielectric constant.
Journ. Biol. Chem. (sous presse).
- 34 - DELAY (J.), DENIKER (P.), HARL (J.M.)
Utilisation en thérapeutique psychiatrique d'une phénothiazine d'action centrale élective (4560 RP).
Ann. Méd. Psychol., 1952, 110, tome 2, 112-117.
- 35 - DELGA (J.), SLIZEWICZ (P.)
Sur une nouvelle réaction colorée de la prométhazine.
Ann. Pharm. Franç., 1955, 13, N° 4, 311-314.
- 36 - DE MORAS (Y.), DREVON (B.), PARADO (C.)
Sur quelques réactions de phénothiazines utilisables à leur recherche rapide dans l'urine.
Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon, 1962, 6, N° 4, 99-112.
- 37 - DE MORAS (Y.), PARADO (C.), DREVON (R.)
Isolement et caractérisation de quelques phénothiazines médicamenteuses par chromatographie.
Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon, 1963, 7, 88-94
- 38 - DEVILLER (M.)
Méthode simple de diagnose de quelques phénothiazines substituées.
Ann. Pharm. Franç., 1961, 19, N° 2, 131-135.

- 39 - DOUZOU (P.)
Influence de la constante diélectrique du milieu sur les associations moléculaires, notamment de l'acide guanylique.
 Journ. Chim. Phys., 1968, 65, N° 1, 167-175.
- 40 - DUBOST (P.)
Dosage du Néo-Antergan dans l'urine.
 Ann. Pharm. Franç., 1949, 7, 139-140.
- 41 - DUBOST (P.), PASCAL (M^{me} S.)
Dosage du Largactil dans les milieux biologiques. Etude du passage dans l'organisme animal.
 Ann. Pharm. Franç., 1953, 11, N° 9-10, 615-619.
- 42 - DUBOST (P.), PASCAL (M^{me} S.)
Dosage du Largactil dans les milieux biologiques. Note complémentaire.
 Ann. Pharm. Franç., 1955, 13, N° 1, 56-57.
- 43 - DUPONTREUE (J.)
Contribution à l'étude analytique de la phénothiazine et de certains de ses dérivés N-substitués.
 Thèse Doctorat Pharmacie (Université), Strasbourg, 1962 - 1963,
 N° 829, ronéotypée, 57 pages.
- 44 - DUQUENOIS (P.), MATHIS (Cl.)
La caractérisation de la chlorpromazine en toxicologie.
 Ann. Méd. Lég. Crim., 1954, 34, 226-230.
- 45 - EIDUSON (S.), WALLACE (R.D.)
A simple colorimetric method for the determination of phenothiazines in urine.
 Transactions of the second research conference on chemotherapy in psychiatry. 1958, 2, 88-90.

- 46 - EISDORFER (I.B.), ELLENBOGEN (W.C.)
A chromatographic procedure for separating chlorpromazine derivatives.
Journ. Chromat., 1960, 4, 329-333.
- 47 - FELS (I.G.), KAUFMAN (M.), KARCZMAR (A.G.)
The determination of chlorpromazine.
Paper read at American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics.
Ann. Arbor. Michigan, 25-28 Août 1958 (Abstract from printed program).
- 48 - FISHMAN (V.), GOLDENBERG (H.)
Metabolism of chlorpromazine organic extractable fraction from human urine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1960, 164, 99-103.
- 49 - FLANAGAN (T.L.), REYNOLDS (L.W.), NOVICK (W.J.),
LIN (T.H.), RONDISH (I.M.), VAN LOON (E.J.)
Biliary and urinary excretion patterns of chlorpromazine in the dog.
Journ. Pharm. Sci., 1962, 51, 833-836.
- 50 - FORREST (I.S.)
Phenothiazine drug metabolism.
Cours d'Instruction aux psychiatres de l'Université de Stanford,
(Communication personnelle). 1966 - 1967.
- 51 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.)
A simple test for the detection of chlorpromazine in urine.
Amer. Journ. Psych., 1957, 113, 931-932.
- 52 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.)
Urine tests for the detection of the newer phenothiazine compounds drug excretion rates, clinical implications and recent developments in research on phenothiazine drugs.
Chemotherapy in Psychiatry, 4th Research Conference, 1959,
Washington, 1960, D.C.V.A. Department of Medicine and Surgery,
245-247.

- 53 FORREST (I.S.), FORREST (F.M.)
Urine color test for the detection of phenothiazine compounds.
Clin. Chem., 1960, 6, 11-15.
- 54 FORREST (I.S.), FORREST (F.M.)
Mise en évidence rapide des phénothiazines dans l'urine : réflexion à propos du travail de A. NOIRFALISE et M. LECOMTE.
Ann. Biol. Clin., 1967, 25, N° 3-4, 475-476.
- 55 - FORREST (I.S.), BOLT (A.G.), SERRA (M.T.)
Distribution of chlorpromazine metabolites in selected organs of psychiatric patients chronically dosed up to the time of death.
Biochem. Pharm., 1968, 17, 2061-2070.
- 56 FORREST (I.S.), FORREST (F.M.), KANTER (S.L.)
Elimination of false negative results with the F.P.N. FORREST test for phenothiazine derivatives in urine.
Clin. Chem., 1966, 12, 379-384.
- 57 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.), MASON (A.S.)
A rapid urinary test for chlorpromazine, promazine and pacatal. A supplementary report.
Amer. Journ. Psych., 1958, 114, 931-932.
- 58 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.), MASON (A.S.)
A rapid urine color test for triflupromazin (Vesprin).
Amer. Journ. Psych., 1959, 115, 1114-1115.
- 59 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.), MASON (A.S.)
A rapid semi quantitative urine color test for piperazine liked phenothiazine drugs.
Amer. Journ. Psych., 1959, 116, 549-551.
- 60 - FORREST (I.S.), FORREST (F.M.), MASON (A.S.)
A rapid urine color test for thioridazine (Mellaril, TP 21, Sandoz).
Amer. Journ. Psych., 1960, 116, 928-929.

- 61 - FORREST (F.M.), FORREST (I.S.), MASON (A.S.)
Review of rapid urinary tests for phenothiazine and related drugs.
 Amer. Journ. Psych., 1961, 118, 300-307.
- 62 - FOSSOUL (M^{elle} Cl.)
Caractères analytiques de quelques antihistaminiques de synthèse.
 Journ. Pharm. Belgique, 1950, 5, 202-218.
- 63 - FOSSOUL (M^{elle} Cl.)
Méthodes de dosage colorimétrique des antihistaminiques.
 Journ. Pharm. Belgique, 1952, 7, 308-331.
- 64 - FOSTER (R.), HANSON (P.)
Electron donor-acceptor complex formation by compounds of biological interest. II - Optical absorption spectra of mixtures of phenothiazines and related compounds with electron acceptors.
 Biochim. Biophys. Acta, 1966, 112, 482-489.
- 65 - FRAHM (M.), FREWURST (E.), SOEHRING (K.)
Papierchromatographischer Nachweis einiger Phenothiazinderivate im Harn.
 Klinische Wochenschrift, 1956, 34, 1256-1262.
- 66 - GAGNAIRE (D.), LEMAIRE (H.), RASSAT (H.), SERVOZ-GAVIN (P.)
Structure hyperfine de l'ion positif de la phenothiazine, obtenu par oxydation sulfurique.
 C.R. Acad. Sciences, 1962, 255, 1441-1443.
- 67 - GAULTIER (M.), FOURNIER (E.), GERVAIS (P.), EFTHYMIU (M.L.), BISMUTH (C.), BODIN (F.), CHRISTOFOROV (B.), SICOT (C.), FREJAVILLE (J.P.).
Travail du secteur de réanimation de la clinique toxicologique pendant l'année 1967.
 Bull. Méd. Lég. Tox. Méd., 1968, 11, N° 1, 21-39.

- 68 GEBUS (B.), KNOESEL (R.), PARROD (J.)
Complexes à transfert de charge macromoléculaires : propriétés des complexes de la polyvinyl-phénothiazine.
Bull. Soc. Chim. Franç., 1960, N° 1, 290-294.
- 69 - GILETTE (J.R.), KAMM (J.J.)
The enzymatic formation of sulfoxydes : the oxydation of chlorpromazine and 4-4'-diaminodiphénylsulfide by guinea pig liver microsomes.
Journ. Pharm. Exp. Therap., 1960, 130, 262-267.
- 70 - GREBENNIK (L.I.)
[Méthodes de détermination de l'aminazine et de son excrétion après administration orale et sous-cutanée].
Zhurnal Nevro patologii i psykhiatrii imeni S.S. Korsakova, 1957, 57, 208-213.
- 71 - GREEN (D.E.), FORREST (I.S.), FORREST (F.M.), SERRA (T.M.).
Interpatient variation in chlorpromazine metabolism.
Expl. Med. Surg., 1965, 23, 278-286.
- 72 - GROVER (J.), VELLAR (O.D.)
Klorpromazin-medikasjon og urin funn.
Tidsskrift for dem Norske Laegeforening, 1957, 77, 638-639.
- 73 GUNEW (D.)
The determination of Phenothiazine in commercial preparations by chromatography.
Analyst, 1960, 85, 360-364.
- 74 - GUTMANN (F.), KEYSER (H.)
Study of phenothiazine and chlorpromazine iodine complexes.
J. Chem. Phys., 1967, 46, 1969-1974.

- 75 · HALEY (Th. J.), KEENAN (G.L.)
Microtoxicology. VIII - Optical cristallographie properties and micro-chemical reactions several long-acting antihistaminic drugs.
Journ. Amer. Pharm. Assoc., 1950, 39, 526-532.
- 76 - HAMON (J.), PARAIRE (J.), VELLUZ (J.)
Remarques sur l'action du 4560 R.P. sur l'agitation maniaque.
Ann. Méd. Psych., 1952, 110, tome 1, 331-335.
- 77 · HAMON (J.), PARAIRE (J.), VELLUZ (J.)
Etats anxieux et barbituriques potentialisés.
Ann. Méd. Psych., 1952, 110, tome 2, 402-403.
- 78 - HAXAIRE (A.), BLOCH (J.M.), MIRJOLET (M.)
Etude de l'action du nitrite de sodium sur la strychnine et sur certains dérivés de la phénothiazine.
Bull. Soc. Pharm. Nancy, 1958, 36, 17-28.
- 79 ~ HEYMAN (J.J.), ALMUDEVAR (M.), MERLIS (S.)
A modification of the FORREST test for phenothiazines.
Amer. Journ. Psych., 1959, 116, 259-260.
- 80 - HEYMAN (J.J.), BAYNE (B.), MERLIS (S.)
The estimation of phenothiazines using chemically impregnated paper strips.
Amer. Journ. Psych., 1960, 116, 1108-1109.
- 81 - HORWITZ (W.)
Official methods of analysis., 1955, 8° édition.
The Association of Official Agricultural Chemists, Washington, p.679.
- 82 - HUANG (C.L.), KURLAND (A.A.)
Chlorpromazine blood levels in psychotic patients.
Archives of General Psych., 1961, 5, 509-513.

- 83 HUANG (C.L.), RUSKIN (B.H.)
Determination of serum chlorpromazine metabolites in psychotic patients.
Journ. Nerv. Ment. Disease, 1964, 139, N° 4, 381-386.
- 84 HUI BON HOA (G.), LANGLET (J.), BALNY (C.)
Etude des formes dimère et polymère d'un dérivé cyanine en fonction de la température.
Journ. Chim. Phys., 1968, 65, N° 2, 372-375.
- 85 IDSON (B.)
Antihistamine drugs.
Chem. Reviews, 1950, 47, 307-527
- 86 JOB (P.)
Etude spectrographique de la formation des complexes en solution et de leur stabilité.
C.R. Acad. Sc., 1925, 180, 928-930.
- 87 JOHNSON (D.E.), MILLAR (J.D.), BURCHFIELD (H.P.)
A new extraction technique for isolating chlorpromazine metabolites from urine.
Life Science, 1963, 2, N° 12, 959-963.
- 88 KARREMAN (G.)
in SZENT-GYORGYI (A.)
Référence N° 146.
- 89 KARREMAN (G.), ISENBERG (I.), SZENT-GYORGYI (A.)
On the mechanism of action of chlorpromazine.
Science, 1959, 130, 1191-1192.
- 90 KIGER (J.L.), KIGER (J.G.)
Procédés de diagnose différentielle rapide et en série des dérivés usuels de la phénothiazine.
Ann. Pharm. Franç., 1965, 23, N° 7-8, 489-500.

- 91 - KISTNER (S.)
The effect of atabrine and promazine derivatives on the activity of the old Yellow Enzyme.
Acta Chem. Scand., 1960, 6, 1389-1402.
- 92 - KLEINSORGE (H.), THALMAN (K.), ROSNER (K.)
Die Ausscheidung des N-methyl piperidyl (3)-méthyl phenothiazine beim Menschen; ein Beitrag zur Kolorimetrie der Phenothiazin-derivate.
Arzneimittel Forschung, 1959, 9, 121-123.
- 93 - KNIASEFF (V.)
Determination of Phenothiazine in dust and mixtures.
Anal. Chem., 1948, 20, 329-331.
- 94 - KNOESEL (R.), GEBUS (B.), PARROD (J.)
Etude photochimique des solutions de phénothiazines et de certains anhydrides dans l'acétonitrile. Effet photochrome.
C.R. Acad. Sc. 1969, 268, 727-729.
- 95 - KOFOED (J.), FABIERSKIEWICZ (C.), LUCAS (G.H.)
A study of the conversion of phenothiazine derivatives to the corresponding sulfoxides on thin layer plates.
Journ. Chrom., 1966, 23, 410-416.
- 96 - KOHN-ABREST (E.)
Précis de Toxicologie.
1955, Paris, DOIN Ed. 3^e Edition, 506 pages (p.440).
- 97 - LABORIT (H.), HUGUENARD (P.)
L'hibernation artificielle par moyens pharmacodynamiques et physiques.
Presse Médicale, 1951, 59, 1329.
- 98 - LABORIT (H.), HUGUENARD (P.), ALLUAUME (R.)
Un nouveau stabilisateur neurovégétatif : le 4560 RP.
Presse Médicale, 1952, 60, 206-208.

- 99 - LAFARGUE (P.)
A propos d'une technique colorimétrique stable pouvant être utilisée pour la recherche des phénothiazines dans l'urine.
Ann. Biol. Clin., 1968, 26, N°3-4, 465-466.
- 100 LAGERCRANTZ (G.)
Formation of free radicals from some phenothiazine derivatives as studied by electron spin resonance.
Acta Chem. Scand., 1961, 15, 1545-1556.
- 101 - LEACH (H.), CRIMMIN (W.R.C.)
The colorimetric estimation of 3-chlorpromazine in biological fluids.
Journ. Clin. Path., 1956, 9, 164-165.
- 102 - LEBRETON (R.), HERVE (A.)
Quelques difficultés toxicologiques dues à l'utilisation des dérivés de la phénothiazine.
Ann. Méd. Lég. Crim., 1954, 34, 125-129.
- 103 LEMONTEY (Y.), MEUNIER (J.), LAFARGUE (P.)
Recherche, identification et dosage en toxicologie d'urgence des 5-H dibenzo-(b,f)-azépines dans les milieux biologiques.
Clin. Chim. Acta. (sous presse).
- 104 - LHOSTE (J.M.), TONNARD (F.)
Etude expérimentale et théorique de la résonance paramagnétique électronique des radicaux cations de la phénothiazine et de la phénoxazine.
Journ. Chim. Phys., 1966, 5, 678-686.
- 105 LIN (T.H.), REYNOLDS (L.W.)
Letter to the editor.
Amer. Journ. of Psych., 1960, 116, 752.

- 106 - MERCIER (M.)
Complexes par transfert de charge et coefficients de partage des Phénothiazines. Relation entre ces paramètres et l'activité neuroleptique.
Thèse Doctorat en Sciences Pharmaceutiques,
Université de Louvain, 1969, (205 pages).
- 107 - MEUNIER (J.)
Laboratoire et Toxicologie hospitalière d'urgence.
Bull. Soc. Méd. Chir. Hôp. Form. Sanit. Armées,
1969, 1, N° 6, 619-627.
- 108 - MEUNIER (J.), LEMONTEY (Y.), LAFARGUE (P.)
Utilisation de réactions colorées et de fluorescence pour la détection rapide en toxicologie hospitalière d'urgence de quelques médicaments psychotropes.
Ann. Biol. Clin., 1970 (sous presse).
- 109 - MEUNIER (J.), VACCON (L.), HUGNY (D.), LAFARGUE (P.)
Activité du département de toxicologie d'urgence du laboratoire de Biochimie Clinique du Val-de-Grâce au cours de l'année 1969.
Bull. Soc. Méd. Chir. Hop. Form. San. Armées,
1970, 2, N° 3, 253-256.
- 110 - MEUNIER (J.), VIOSSAT (B.), LETERRIER (F.), DOUZOU (P.)
Réaction du pentachlorure d'antimoine avec la phénothiazine et quelques uns de ses dérivés.
Ann. Pharm. Franç., 1967, 25, N° 11, 683-696.
- 111 - MULLIKEN (R. S.)
Structures of complexes formed by halogen molecules with aromatic and with oxygenated solvents.
J. Amer. Chem. Soc., 1950, 72, 600-608.
- 112 - MULLIKEN (R. S.)
Molecular compounds and their spectra -II-
J. Amer. Chem. Soc., 1952, 74, 811-824.

- 113 - NADEAU (G.), SOBOLEWSKI (G.)
Identification et dosage des drogues de la famille des phénothiazines par chromatographie sur papier.
Journ. Chrom., 1959, 2, 544-546.
- 114 - NADEAU (G.), SOBOLEWSKI (G.)
Estimation of phenothiazine derivatives in urine II. Efficiency of dosage and conjugation capacity after oral administration of chlorpromazine and levomépromazine in man.
Canad. Med. Assoc. Journ., 1959, 81, 658-659.
- 115 - NADEAU (G.), SOBOLEWSKI (G.)
Estimation of phenothiazine derivates (especially chlorpromazine and levomepromazine) in urine : a convenient method.
Canad. Med. Assoc. Journ., 1959, 80, 826-827.
- 116 - NELLHAUS (G.)
Clinical use of phenistix reagent strip method of testing urine samples.
Journ. Amer. Med. Assoc., 1959, 170, 1052-1053.
- 117 - NELLHAUS (G.)
Test to aid in diagnosis of phenothiazine intoxication.
Pediatrics, 1959, 23, 1019.
- 118 - NEUHOFF (E.W.), AUTERHOFF (H.)
Zur analytik der antihistamine.
Archiv. der Pharmazie, 1955, 288, 400-407.
- 119 - NEVE (H.K.)
Demonstration of Largactil (chlorpromazine hydrochloride) in the urine.
Journ. of Mental Science, 1958, 104, 488-490.

- 120 - NOIRFALISE (A.)
Mise en évidence et différentiation des dérivés phénothiaziniques par chromatographie sur couche mince.
Acta Clinica Belgica, 1965, 20, 273-278.
- 121 - NOIRFALISE (A.)
Mise en évidence de quelques dérivés phénothiaziniques par chromatographie en couche mince de silicagel.
Journ. Chrom., 1965, 19, 68-74.
- 122 - NOIRFALISE (A.), GROSJEAN (M.H.)
Mise en évidence de quelques dérivés de la phénothiazine par chromatographie en couche mince.
Journ. Chrom., 1964, 16, 236-237.
- 123 - NOIRFALISE (A.), LECOMTE (M.)
Mise en évidence rapide des phénothiazines dans l'urine.
Ann. Biol. Clin., 1966, 24, N° 3-4, 413-415.
- 124 - *Note technique sur le Phénergan (3277 R.P.)*
Soc. Parisienne d'expansion chimique SPECIA, Novembre 1957.
- 125 - *Note technique sur le Nozinan (7044 R.P.)*
Soc. Parisienne d'Expansion Chimique SPECIA, Février 1960.
- 126 - OVERHOLSER (L.G.), YOE (J.H.)
Colorimetric determination of phenothiazine with palladous chloride.
Indust. Eng. Chem. Anal. Ed., 1942, 14, 646-647.
- 127 - PHILIBERT (H.)
Chromatographie et toxicologie. Les problèmes strychnine-quinine et strychnine-dérivés de la phénothiazine.
Bull. Soc. Pharm. Marseille, 1955, 4, 183-189.

- 128 - PIETTE (L.H.), FORREST (I.S.)
Electron paramagnetic resonance studies of free radicals in the oxydation of drugs derived from phenothiazine in vitro.
Biochim. Biophys. Acta, 1962, 57, 419-420.
- 129 - PLIGIN (S.G.)
Opredeleniye aminazina i dinezina.
[Détermination de l'aminazine et dinezine].
Aptecnoe Delo, 1964, 13, 44-50.
- 130 - PULLMAN (B.)
Aspects de la structure électronique des phénothiazines.
Agressologie, 1968, IX, N° 1, 19-23.
- 131 - PULLMAN (B.)
Molecular Associations in Biology.
Acad. Press. New-York, London 1968, 571 pages.
- 132 - PULLMAN (B.), PULLMAN (A.)
Quantum Biochemistry.
Interscience New-York, 1963, 1 Vol., 874 pages, p. 804.
- 133 - PULLMAN (A.), PULLMAN (B.)
*Charge transfer complexes in biochemistry in :
Quantum Theory of Atome, Molecules and solid state.*
Acad. Press. New-York, 1966, p. 345.
- 134 - PUNGOR (Von E.)
Untersuchung des oxydation des chlorpromazine und verforlung des oxydations - vorganges mit dem hoch frequenz - Titrimeter.
Pharm. Acta Helvet, 1960, 35, 173-182.
- 135 - RAGLAND (S.B.), KINROSS - WRIGHT (V.J.), RAGLAND (R.S.)
Determination of phenothiazines in biological samples.
Anal. Biochem., 1965, 12, 60-69.

- 136 - RIEDER (Von H.P.)
Einige spektrophotometrische Charakteristika von phenothiazin und thiaxanthen derivaten.
Med. Experim., 1960, 3, 353-356.
- 137 - ROBINSON (A.)
Biotransformations in vitro undergone by phenothiazines derivatives in a liver preparation.
Journ. Pharm. Pharmacol., 1968, 18, 19-32.
- 138 - ROCHE (L.)
Centre anti-poisons de Lyon.
Activité pendant l'année 1968.
Bull. Méd. Lég. Tox. Méd., 1969, 12, N° 2, 59-98.
- 139 - RODRIGUEZ (C.F.), JOHNSON (D.E.)
A new metabolite of chlorpromazine in human urine.
Life Sciences, 1966, 5, 1283-1291.
- 140 - RYAN (J.A.)
A colorimetric assay for unoxidized phenothiazine derivatives : a new complex salt.
Journ. Amer. Pharm. Assoc., 1959, 48, 240-243.
- 141 - SALZMAN (N.P.), MORAN (N.C.), BRODIE (B.B.)
Identification and pharmacological properties of a major metabolite of chlorpromazine.
Nature, 1955, 176, 1122-1123.
- 142 - SCHMALZ (A.C.), BURGER (A.)
The action of hydrochloric and nitric acids on some derivates of phenothiazine.
Journ. Amer. Chem. Soc., 1954, 76, 5455-5459.

- 143 - SOLSONA (M.), MORA (A.)
Valoracion de derivados fenotiazincos con la raiz aislada de Raphanus sativus.
Revista Espanola de Fisiologia, 1951, 7, 221-224.
- 144 - STOM (D.I.)
Formation of coloured complexes on freezing solutions of quinone with indole derivate.
Biofizika, 1967, 12, N° 1, 153-154.
- 145 - SUNSHINE (I.)
Use of thin layer chromatography in the diagnosis of poisoning.
Amer. Journ. Clin. Pathol., 1963, 40, 576-582.
- 146 - SZENT - GYORGYI (A.)
Introduction to a submolecular biology.
Acad. Press. New-York, 1960, 1 vol., 135 pages, (p. 112).
- 147 - SZENT - GYORGYI (A.)
Charge transfer and electronic mobility.
Proc. Nat. Acad. Sciences, 1967, 2012-2014.
- 148 - THIERY (C.), CAPETTE (J.), MEUNIER (J.), LETERRIER (F.)
Etude spectroscopique d'une série de dérivés de la phénothiazine.
Journ. Chim. Phys., 1969, 66, N° 1, 134-139.
- 149 - TRUHAUT (R.), BOUDENE (C.), CLAUDE (J.R.)
Aperçus sur les applications de la chromatographie en couche mince (C.C.M.), en analyse toxicologique.
Ann. Biol. Clin., 1968, 26, 93-111.
- 150 - VESELL (E.S.)
Urinary test for a metabolite of prochlorperazine.
New England Journ. Méd., 1959, 260, 1078.

- 151 - WECHSLER (M.B.), WHARTON (R.N.), TANAKA (E.), MALITZ (S.)
Chlorpromazine metabolite pattern in psychotic patients.
Journ. Psych. Research, 1967, 5, 327-333.
- 152 - WISER (R.), KNEBEL (C.), STEIFTER (J.)
The determination of promazine in biological materiel.
Amer. Soc. Pharm. Exp. Therap., 1960, 2, 83.
- 153 - YAGI (K.), OZAWA (T.), NAGATSU (T.)
Mechanism of inhibition of D-aminoacid oxydase.
IV - Inhibitory action of chlorpromazine.
Biochem. Biophys. Acta, 1960, 43, 310-317.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I - FORMATION DE COMPLEXES PAR TRANSFERT DE CHARGE (C.T.C.) ET DE RADICAUX CATIONS	5
- Généralités	5
- 11 - <u>Formation de complexes par transfert de charge</u>	7
111 - Complexes antérieurement décrits	9
112 - Protocole expérimental	13
113 - Résultats obtenus et observations	14
a) C.T.C. entre la phénothiazine et la benzoparaquinone	14
b) C.T.C. entre la phénothiazine et la toluquinone	15
c) C.T.C. entre le chlorhydrate de chlorpromazine et la toluquinone	15
d) C.T.C. entre la benzoparaquinone et d'autres dérivés de la phénothiazine	16
114 - Etude de la stoechiométrie du complexe formé entre la phénothiazine et la benzoparaquinone par la méthode des variations continues de JOB	17
115 - Discussion	20
- 12 - <u>Formation de radicaux libres</u>	23
121 - Le phénomène de résonance paramagnétique électronique (R.P.E.)	24
122 - Contenu des signaux de R.P.E.	26
123 - Appareillage utilisé	26
124 - Formation de radicaux cations phénothiaziniques	27
125 - Hypothèse relative à la formation des radicaux phénothiaziniques	29

CHAPITRE II - ETUDE ET APPLICATIONS QUALITATIVES DE LA REACTION "QUINONE-ACIDE PHOSPHORIQUE"	31
Généralités et réactifs antérieurement décrits	31
- 21 - <u>Etude des réactions colorées développées par action de la benzoparaquinone sur des solutions acides de phénothiazine et de ses dérivés</u>	35
211 - Etude des solutions acides de phénothiazine et de ses dérivés	35
2111 - Réactifs et appareillages	36
2112 - Résultats obtenus	36
212 - Action de la benzoparaquinone sur les solutions acides de chlorpromazine	37
2121 - Réactifs utilisés	37
2122 - Action de la benzoparaquinone	37
2123 - Influence de la concentration en benzoparaquinone	38
2124 - Etude des spectres des colorations développées par la phénothiazine et ses dérivés. Résultats et conclusions	40
22 - <u>Action des différents dérivés quinoniques sur le développe- ment de la coloration de solutions de chlorpromazine dans l'acide phosphorique</u>	47
- 23 - <u>Application de la réaction à la benzoparaquinone pour la mise en évidence des dérivés de la phénothiazine sur un chromatogramme</u>	49
CHAPITRE III - ETUDES ET APPLICATIONS QUANTITATIVES	59
- 31 - <u>Méthodes de dosage des dérivés de la phénothiazine</u>	59
- 32 - <u>Utilisation de la réaction à la benzoparaquinone pour le dosage des dérivés de la phénothiazine</u>	64
321 - Réactifs utilisés	64
322 - Appareillage utilisé	64

323 - Préparation de la solution de benzoparaquinone	64
324 - Nature de l'acide utilisé	64
325 - Action de la benzoparaquinone sur des solutions 5 . 10 ⁻⁵ M de chlorpromazine dans l'acide phospho- rique	65
326 - Loi de Beer	65
327 - Réactions obtenues à partir de solutions de chlorpromazine dans le dichloroéthane	66
328 - Réactions obtenues à partir de solutions aqueuses de chlorpromazine	67
3281 - Réaction directe sans extraction préalable	68
3282 - Réaction colorée après extraction	68
329 - Influence de la température sur la stabilité de la réaction	69
330 - Reproductibilité	70
331 - Etude quantitative des réactions développées par la lévomépromazine et la thioridazine .	71

CHAPITRE IV - APPLICATION DE LA REACTION A L'ETUDE DE L'ELIMINATION URINAIRE DES DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE ET DE LEURS METABOLITES

- 41 - <u>Métabolisme de la chlorpromazine</u>	73
- 42 - <u>Partie expérimentale</u>	78
421 - Elimination urinaire des métabolites peu polaires d'un dérivé de la phénothiazine	79
4211 - Etude du rendement d'extraction d'un dérivé de la phénothiazine en solution dans l'urine	80
4212 - Technique de l'étude des éliminations uri- naires journalières chez un malade traité à la périmétazine	81
4213 - Résultats	82
4214 - Etude chromatographique des extraits	85
4215 - Etude des extraits obtenus à partir de l'urine de malades absorbant d'autres dérivés de la phénothiazine	86

422 - Elimination urinaire des métabolites phénoliques et conjugués d'un dérivé de la phénothiazine	90
- 43 - <u>Conclusions</u>	94
 <i>CHAPITRE V - APPLICATION EN TOXICOLOGIE HOSPITALIERE D'URGENCE DE LA REACTION "ACIDE PHOSPHORIQUE-BENZOPARAQUINONE"</i>	 95
- 51 - Problèmes posés par l'analyse toxicologique hospitalière d'urgence	96
- 52 - Réactifs "de groupe" pour la recherche des dérivés de la phénothiazine. - Discussion...	97
- 53 - Technique de recherche des dérivés de la phénothiazine utilisant la réaction à la benzoparaquinone	105
531 - Principe	105
532 - Mode opératoire	106
- 54 - Résultats	107
 <i>CONCLUSIONS</i>	 109
 <i>BIBLIOGRAPHIE</i>	 113
 <i>TABLE DES MATIERES</i>	 135

Vu et permis d'imprimer
Paris, le Septembre 1970

18 SEP. 1970

Le Doyen :

A. QUEVAUVILLER

